

발간등록번호

11-1543000-000518-01

장 건강 증진용 현미·채소 발효 소재와
그를 응용한 한식음료 타입 제품 개발
(Development of fermented Hansik drink
using brown rices and vegetables)

농림축산식품부

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “장 건강 증진용 현미·채소발효 소재와 그를 응용한 한식음료 타입 제품 개발”
에 대한 최종보고서로 제출합니다.

2014년 7월 29일

샘표식품(주)

연 구 진

연구기관명 : 샘표식품(주)

연구책임자 : 허 병 석

책임연구원 : 김 문 석

책임연구원 : 정 귀 화

책임연구원 : 정 영 선

연 구 원 : 김 병 구

연 구 원 : 김 종 민

연 구 원 : 이 은 주

연 구 원 : 박 태 순

연 구 원 : 장 지 원

연 구 원 : 김 영 신

연 구 원 : 김 미 경

연 구 원 : 전 슬 기

연 구 원 : 박 정 희

연 구 원 : 김 선 진

연구기관명 : 한국식품연구원

책임연구원 : 홍 상 필

책임연구원 : 김 영 호

책임연구원 : 이 남 혁

책임연구원 : 김 은 미

연 구 원 : 조 은 지

연 구 원 : 김 아 라

요 약 문

I. 제 목: 장 건강 증진용 현미·채소발효 소재와 그를 응용한 한식음료 타입 제품 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

본 연구는 풍미가 우수하고, 식이섬유가 풍부한 현미·무발효물의 소재를 개발하고, 이를 활용한 장 건강 증진 한식음료 개발과 개발 음료의 품질안정화 기술 개발 및 미국인 선호형 한식음료 특성 평가를 목표로 함. 1) 발효기술 최적화를 통해 향미가 증진된 한식음료용 현미발효물 및 무발효물 소재 개발 2) 현미발효물 및 무발효물을 활용한 한식음료를 개발함으로써 관련 사업에 기초 연구 자료를 제공 하고자 함.

시판되고 있는 대표적인 장 건강 관련 음료인 발효유 및 식이섬유 함유 음료의 1회 제공량(70-190ml)당 열량 20-150kcal, 당 4-26g 함유되어 있음. 음료 중 장 건강에 이로운 성분과 식이섬유가 많이 함유되어 있다 하더라도, 동시에 당 함량과 칼로리가 높아 많이 마시게 되면, 복부비만, 체지방 증가 등을 유발하게 될 수 있음. 따라서, 당 함량과 열량을 낮추면서도 기능성을 증진시킬 수 있는 소비자 선호형 음료 제품의 개발이 필요함.

III. 연구개발 내용 및 범위

<목표>

- 풍미가 우수하고, 식이섬유가 풍부한 현미발효물 및 무발효물 소재 개발
- 현미발효물과 무발효물 소재를 활용한 장건강 증진 한식음료 개발
- 개발 음료의 품질안정화 기술 개발 및 미국인 선호형 한식음료 특성평가

<연구개발 내용 및 범위>

- 시판 발효음료 제품의 동향 조사 및 소비자 니즈 분석
- 풍미와 타겟성분을 향상시킬 수 있는 발효균주 선별
- 발효기술 최적화를 통한 향미가 증진된 현미발효물과 무발효물 개발
- 현미발효물 및 무발효물을 활용한 한식음료 개발
- 현미·무발효물 및 음료의 영양학/이화학/향미성분 분석
- Hurdle 기술을 이용한 품질 안정화 기술 확립
 - 적정 hurdle 설정 및 최적 품질 안정화 조건 확립
- 미국인 소비자 선호형 한식음료 특성 평가
 - 미국인 소비자들의 기호도 평가 및 우수 기호 조건 확립

IV. 연구개발결과

서울시 보건환경연구원의 보고에 따르면, 시판되는 다양한 음료 총 52건을 검사한 결과 47건의 제품이 100ml 당 3-15g의 포도당, 과당, 설탕을 함유하고 있었으며, 음료 1회 섭취량이 많게는 세계보건기구(WHO)의 성인 1일당 섭취 권고량 50g에 미치는 수준이라고 함. 2014년 6월 WHO는 하루 설탕 섭취를 하루 열량의 5%인 6티스푼(25g, 성인기준)이하로 줄이라는 새 권고안을 발표하였음. 이에, 건강음료에 대한 소비자들의 니즈는 점점

증가할 것으로 사료됨.

▪ 현미발효물 소재 개발

현미발효에 적합한 유산균은 산생성능, 균 생육성, 유리당 이용성, 관능 등을 고려하여 *Lactobacillus* sp. 1종을 선별하였음. 현미발효액(saccharified-brown rice)의 발효온도와 시간은 60℃, 15 h으로 설정함. 현미발효물의 주요 향미성분은 acetic acid/ethyl ester, diacetyl, acetone, acetic acid로 나타남. 현미발효물의 타겟 영양성분은 조단백질 1.0%, 총아미노산 0.65%, 유리아미노산 0.01%, 유기산 함량은 lactic acid로 0.52%로 나타남. 미네랄 함량은 칼륨(K) 272.88 mg/kg, 마그네슘(Mg) 109.8 mg/kg, 나트륨(Na) 66.49 mg/kg, 칼슘(Ca) 30.45 mg/kg, 철(Fe) 4.8 mg/kg으로 나타남. 현미발효물의 품질 규격은 고형분 19.0 ± 0.5 %, 당도(brix) 19.0 ± 1.0, glucose 15.0 ± 0.5 %, 점도 3,100 ± 100 cp, 산도 0.55 ± 0.05 %, pH 3.5 ± 0.1, 일반세균수 불검출(N.D.), 효모수 불검출(N.D.)로 설정함.

▪ 무발효물 소재 개발

무발효물을 만들기 위하여 4종류의 동치미 샘플을 이용하여 내산성, 내염성 등을 확인하여 *Lactobacillus* sp. L2 1종을 분리 및 선별하였음. 선별 균주의 생균수가 10⁹ 이상이 나오는 최적 배양 조건(pH 6.8, 30℃, 교반-150rpm)을 확립하였으며, 무발효물은 관능을 통하여 발효 온도는 30℃, 발효 시간은 발효와 숙성시간을 합한 6일로 최적 발효 조건으로 설정하였음. 무발효물은 마늘의 유무에 따라 각각 11kcal, 8kcal의 열량을 가지고 있음.

▪ 현미·무 발효물을 활용한 한식음료 개발

현미유산균 발효물과 무발효물을 이용한 새콤달콤하고 시원하며 구수한 맛의 한식음료는 요인설계를 통하여 고칼로리 타입(72Kcal/100ml)과 저칼로리 타입(40kcal/100ml)을 제조하였음. 무발효물은 관능평가로 1%씩 동일하게 첨가하였음. 생강농축액을 적용하여 한식과의 연관성, 깔끔함 등의 속성을 높였음. 국내 소비자 조사를 진행한 결과, 고칼로리 타입이 9점 척도에 6.8점으로 나타났고, 저칼로리 타입은 9점척도에 5.6점으로 나타나 음료에서는 칼로리적인 측면보다 맛적인 측면이 더욱 중요한 포인트임을 확인하였음. 그러나, 하루에 몇 번을 마시느냐에 따라 기호도는 변할 수 있을 것으로 사료되고, 이 부분은 추가 연구가 필요함.

▪ 음료의 품질 안정화 기술 확립

- 풍미관련 성분 특성 분석

현미 및 무발효물의 주요 성분인 유기산과 유리당 성분 조성에 대한 HPLC 분석 결과 현미발효물에서는 젖산 0.63%, 포도당 8.3% 함유되었고 무발효물에서는 젖산 0.37%, 초산 0.15%, 구연산 0.03% 및 마니톨 0.98% 함유된 것으로 나타났음.

- 기호도 평가 및 품질인자 도출

현미 및 무발효물에 대한 묘사분석을 통해 향, 맛, 텍스처 및 후미에 대한 묘사속성들을 도출하였음. 전반적인 기호도 평가에서 현미발효물과 무발효물은 각각 5.64점 및 4.27점으로 차이를 보였음.

- 초고압, joule 가열, 초음파 처리 등 적용 기술 설정

현미 및 무발효물에 대해 풍미를 유지할 수 있으면서 살균이 가능한 방법을 검토한 결과 열수처리나 Joule 가열조건에 비해 초고압 처리방법이 유리한 경로로 평가되었으며 초고압처리조건은 500 Mpa, 5분 이상이였음.

- 설정 적용기술에 의한 살균 효과 및 저장성 평가

현미 및 무발효물을 이용하여 제조한 음료 시제품(주관기관 샘플식품 제조)에 대해 초고압처리(500

Mpa, 5분)를 실시한 결과 음료시제품의 초기 총균수는 8.49 log, 젖산균 8.35 log, 효모 및 곰팡이 6.64 log였으나 초고압처리구에 있어서 총균수는 2.01 log, 젖산균수는 2.54 log 그리고 효모 및 곰팡이 수는 0으로 격감하였음. 초고압처리구는 4℃ 및 30℃에 4주 간 저장 시 미생물이 증식하지 않음을 확인하였음.

• 미국인 소비자의 선호 음료 특성 평가

- 미국인 선호 음료 특성 조사

미국인들 대부분은 과일주스를 선호하고 속성으로서 청량감(96%)과 기능성(77%)을 매우 중요하게 인식하였고 음료로 인해 비만(35%), 충치(25%), 당뇨(22%)를 걱정하였으며 인공향과 보존료의 개선을 희망하였음. 미국인들은 발효음료에 대한 구매의사를 50% 이상 보여 미국인을 대상으로 한 발효음료 시장 확보에는 큰 문제가 없을 것으로 전망되었음.

- 외식 전문가를 통한 평가 속성 개발

전문가들은 속성 평가에서는 기능과 청량감 및 포장을 중요시 하였음. 전문가들 50% 이상은 비만과 당뇨를 문제점으로 지적하였고 인공향이나 보존료의 개선 및 천연 감미료 대체를 원하였음. 발효음료 개발 시 반영해야 될 사항으로서는 향, 맛, 영양, 칼로리, 건강기능성 및 섬유질 중에서 맛이 가장 중요하고 그 다음으로 건강기능성을 제시하였음. 관능속성에 대해서는 과일, 고유향, 고유맛, 단맛, 탄산미를 강하게 하고 신맛과 뒷맛(후미)을 약하게 하길 희망하였음.

미국인 그룹(3개, 5인/그룹)을 대상으로 음료시제품에 대하여 FGI를 실시한 바 외관을 비롯하여 향, 맛, 마우스필링 등 대부분의 속성에서 4.0점 내외로 낮게 나타났으며 시제품에 대한 미국인 기호도를 높이기 위해서는 과일향의 부여, 단맛 강화 및 신맛과 알콜맛의 축소가 중요한 개선포인트로 지적되었음.

한편 뉴욕 및 LA 소비자(약 100명)에 대하여 시식 평가를 실시한 경우에도 FGI 결과와 유사하였음.

- 우수 기호 조건 설정

북미인들은 음료시제품에 대해 낮은 기호도를 보였는데 이는 시제품의 강한 발효취와 강한 신맛 및 약한 단맛이 주요 요인으로 분석되었음.

향후 북미인들의 기호도를 더욱 높이기 위해서는 청량감을 포함하여 레몬과 같은 과일 flavor 부여, 신맛을 줄이고 단맛을 강화하는 방향으로의 개선이 필요함.

본 연구를 수행하면서 음료 시료를 미국지역으로 전달하는데 어려움이 많았으며 소비자 평가에서 강한 발효취와 강한 신맛으로 시식을 거부하는 소비자들이 많아 결과적으로 우수한 평가를 받기에는 한계가 있었음. 발효음식은 익숙해질 때까지 일정기간이 소요될 수 밖에 없고, 특히, 다른나라의 발효음식을 수용할때는 치즈, 김치, 된장 등 과 같이 더욱 시간이 필요할 수도 있을 것으로 사료됨.

그러나 일부 소비자들은 호평을 하는 경우도 있었고 깊고 구수하며 개운한맛 등 전통음료로서 차별적인 풍미를 보이고 건강기능성도 기대되기 때문에 앞으로 주관기관에서 국내외 전시회나 마트 등에서 적극적인 프로모션을 추진할 경우 성공적인 결과를 기대할 수 있을 것임.

V. 연구성과 및 성과활용 계획

○ 특허 출원 1건

특허출원번호 : 10-2014-0113105

특허제목명 : 향미가 개선된 무 발효 조성물 및 그 제조방법

○ 학술발표 1건

현미발효음료에 대한 북미인들의 기호도 개선 방안. 조은지, 김영호, 이남혁, 홍상필. 2014 한국조리과학회 식생활문화학회 연합학술대회. 이화대학교, 서울. 2014년 5월

○ 현미·무 발효물 소재 개발 및 활용계획

개발된 현미·무 발효물 소재는 한식음료, 식물성 요구르트, 소스 등 활용할 예정임.

SUMMARY

I. Project title

Development of fermented Hansik drink using brown rices and vegetables

II. The objective and necessity of project

The goals of this study are development of brown rice·radish fermentation materials which have excellent flavor and abundant dietary fiber through the study of brown rice fermentation by lactic acid bacteria, and Hansik drink development with these fermentation materials for enhancing intestine health, and development of quality stabilization technology for the drink, and characteristic evaluation of American consumer preference about Hansik drink

1) Development of the brown rice·radish fermentation materials for Hansik drink, which is enhanced flavor through optimization of fermentation technology.

2) Development of Hansik drink made with brown rice·radish fermentation materials, to provide fundamental research materials for related business.

Commercial dietary fiber drinks and fermented milk products have 20–150kcal, and 4~26g sugar per 1 intake (serving size 70~190mL).

However drink have a lot of beneficial compounds and dietary fiber, if drink too much, it may cause abdominal obesity and body fat increase because of sugar and high calorie.

Thus, development of Hansik drink which have low sugar content calorie, and high consumer preference is needed.

III. The scope and contents

<Objective>

- Development of brown rice·radish fermentation materials which have great flavor and abundant dietary fiber.
- Development of Hansik drink which is made with brown rice·radish fermentation materials for enhancement of intestine health.
- Development of quality stabilization technology for the drink, and characteristic evaluation of American consumer preference about Hansik drink.

<The scope and contents>

- Research of commercial fermented drink market, and analysis of consumer needs.
- Selection of fermentation strain which can enhance flavor and target components.
- Development of brown rice·radish fermentation materials which is enhanced flavor through stabilization of fermentation technology.
- Development of Hansik drink which is made with brown rice·radish fermentation materials.
- Nutrition/physic–chemistry/flavor analysis of brown rice·radish fermentation materials and the

drink.

- Establishment of quality stabilization technology by Hurdle technology.
- Set-up of optimal Hurdle and establishment of quality stabilization condition.
- Characteristic evaluation of American preference of Hansik drink.
- Preference evaluation of American consumer and establishment of high preference condition.

IV. Result

Lactic acid bacteria for brown rice fermentation were selected as *L.paracasei*. We had considered the acid production and viability and availability of free sugars and sensory evaluation for *lactobacillus* selection. The optimum fermentation temperature and time of saccharification brown rice was set 15 hours at 60 degrees. The optimal initial glucose concentration of *L.paracasei* fermentation was set at 16%. Optimal lactic acid fermentation temperature and time was set 32 hour sat 30 degrees. Analysis through GC/MS revealed main volatile flavor compounds in fermented brown rice using *L.paracasei*, including acetic acid/ethylester, diacetyl, acetoin, acetic acid etc.. Target nutrients of fermented brown rice are as follows : proteinis 1.5%, total amino acids 0.65%, free amino acids 0.01%, lactic acid 0.52%, potassium(K) is 272.88 mg/kg, magnesium(Mg) 109.8 mg/kg, sodium(Na) 66.49 mg/kg, calcium(Ca) 30.45 mg/kg, iron(Fe) 4.8 mg/kg. Quality standards of fermented brown rice are as follows : solids contentsis 19.0± 0.5 %, Brix 19.0 ± 1.0, glucose 15.0 ± 0.5 %, viscosity(cp) 3,100 ± 100, acidity 0.55 ± 0.05 %, pH 3.5 ± 0.1, aerobic plate counts N.D., yeast counts N.D..

- Development of radish fermentation materials

In order to make radish fermentation materials, 4 kinds of Dongchimi samples are used, and after checking salt tolerance and acid resistance, *Lactobacillus*sp.(L2) is selected. Optimal cultivation condition (pH6.8, 30°C, stir-150rpm), which can make viable cell counts over than 10⁹, is established.

As a result of sensory evaluation, optimal fermentation condition for radish fermentation materials is set up, as fermentation temperature is 30°C, fermentation time is 6 days which is combined fermentation and ripen time. Calorie of radish fermentation materials is 11kcal which is added garlic, and 8kcal which isn't added garlic.

- Development of Hansik drink which is made with brown rice • radish fermentation materials.

Sweet and sour and cool Hansik drink is produced by factorial design as high calorie type (72Kcal/100ml) and Low calorie type (40Kcal/100ml) which are made with brown rice fermentation materials by lactic acid bacteria and radish fermentation materials.

Through sensory evaluation, radish fermentation materials were equally added 1%. Ginger concentrate is added for enhancing simple taste and Korean style taste. As a result of home consumers research, high calorie type score 6.8 point out of 9, low calorie type score 5.6 points

out of 9, it means taste is more important aspect than calorie.

However, preference can be changed by drinking frequency in a day, so it needs additional research.

- Study on strengthening flavor stability

- Analysis of flavor related compounds

As flavor related compounds, lactic acid(0.63%) and glucose(8.3%) was mainly detected in fermented brown rice while lactic acid(0.37%), acetic acid(0.15%), citric acid(0.03%) and mannitol(0.98%) was mainly detected in fermented radish product.

- Sensory evaluation and descriptive analysis

In the descriptive assay of fermented products, important attributes such as aroma, taste, texture and after taste was screened by panels. Difference in the overall acceptance was shown between fermented brown rice(5.64/9.0) and radish product(4.72/9.0) in the sensory evaluation.

- Application of hydrostatic pressure, Joule heating and ultrasonic treatment

Among hydrostatic pressure, Joule heating and ultrasonic technique, hydrostatic pressure and Joule heating technique was evaluated more effective tools to keep natural flavors and reducing microbes of fermented products and its applicable condition was optimized at 500 Mpa, >5 mins and <100°C, respectively.

- Evaluation of sterilization and storage effect

When the beverage product prepared with fermented brown rice and radish was treated at 500 Mpa for 5 mins, total aerobes, lactic acid bacteria, and yeast and fungi resulted in 6.48, 5.81 and 6.64 log reduction, respectively. No more growth of microbes in hydrostatic pressure treatment was shown in the storage experiments at 4°C and 30°C during 4 weeks.

- Characterization of beverage product preferred by American

- Survey on American

Allmost all the American people preferred fruits drinks and recognized freshness(96%) and function(77%) as important factors for beverages. They concerned about obesity(35%), dental caries(25%) and diabetes(22%) due to beverages, and also desired improvement of artificial flavor and preservatives.

- Consumer test

Through consumer test(n=100) and focus group interview(3 groups), attributes such as appearance, flavor, taste and mouthfeel was evaluated around 4.0 in the 9 pts hedonic scale and flavoring, sweetness, sourness and alcohol taste was suggested as main factors to increase American preference for beverage product.

CONTENTS

Charter 1. Summary of research and development project

Charter 2. Contents and Results of Research and development

Part 1. Development of the brown rice·radish fermentation materials for enhanced flavor.

Part 2. Development of Hansik drink using fermented brown rices·radish

Part 3. Establish quality stabilization technology using hurdle technology

Part 4. Evaluation of American consumers prefer type beverages

Charter 3. Level of target accomplishment and contribution to related fields

Charter 4. Achievements of research and development and plans for utilizing research results

Charter 5. Information on international scientific technology collected during research and development

Charter 6. Specific requirement for the project

Charter 7. Research equipment status

Charter 8. References

연구개발보고서 초록

과 제 명	(국문) 장 건강 증진용 현미·채소 발효 소재와 그를 응용한 한식음료 타입 제품 개발		
	(영문) Development of fermented Hansik drink using brown rices and vegetables		
연 구 기 관	샘표식품(주), 한국식품연구원	연 구 자	(소속) 샘표식품(주)
참 여 기 관	샘표식품(주)	책 임 자	(성명) 허 병 석
연 구 비	계	200,000,000원	총 연 구 기 간
			2013. 07.30~2014. 07.29(1 년)
참 여 연 구 원	20 명 (연구책임자: 1 명, 책임연구원: 7 명, 연구원: 10 명, 연구보조원 2 명)		

○ 연구개발 목표 및 내용

1. 목표

- 풍미가 우수하고, 식유섬유가 풍부한 현미발효물 및 무발효물 소재 개발
- 현미발효물과 무발효물 소재를 활용한 장건강 증진 한식음료 개발
- 개발 음료의 품질안정화 기술 개발 및 미국인 선호형 한식음료 특성평가

2. 연구개발 내용

- 시판 발효음료 제품의 동향 조사 및 소비자 니즈 분석
- 풍미와 타겟성분을 향상시킬 수 있는 발효균주 선별
- 발효기술 최적화를 통한 향미가 증진된 현미발효물과 무발효물 개발
- 현미발효물 및 무발효물을 활용한 한식음료 개발
- 현미·무발효물 및 음료의 영양학/이화학/향미성분 분석
- Hurdle 기술을 이용한 품질 안정화 기술 확립
 - 적정 hurdle 설정 및 최적 품질 안정화 조건 확립
- 미국인 소비자 선호형 한식음료 특성 평가
 - 미국인 소비자들의 기호도 평가 및 우수 기호 조건 확립

○ 연구개발결과

서울시 보건환경연구원의 보고에 따르면, 시판되는 다양한 음료 총 52건을 검사한 결과 47건의 제품이 100ml 당 3-15g의 포도당, 과당, 설탕을 함유하고 있었으며, 음료 1회 섭취량이 많게는 세계보건기구(WHO)의 성인 1일 당 섭취 권고량 50g에 미치지 않는 수준이라고 함. 2014년 6월 WHO는 하루 설탕 섭취를 하루 열량의 5%인 6티스푼(25g, 성인기준)이하로 줄이라는 새 권고안을 발표하였음. 이에, 소비자의 건강한 음료에 대한 소비자들의 니즈는 점점 증가할 것으로 사료됨.

1. 현미발효물 소재 개발

현미발효에 적합한 유산균은 산생성능, 균 생육성, 유리당 이용성, 관능 등을 고려하여 *Lactobacillus* sp. 1종을 선별하였음. 현미발효액(saccharified-brown rice)의 발효온도와 시간은 60 ℃, 15 h으로 설정함. 현미발효물의 주요 향미성분은 acetic acid/ethyl ester, diacetyl, acetone, acetic acid로 나타남. 현미발효물의 타겟 영양성분은 조단백질 1.0%, 총아미노산 0.65%, 유리아미노산 0.01%, 유기산 함량은 lactic acid로 0.52%로 나타남. 미네랄 함량은 칼륨(K) 272.88 mg/kg, 마그네슘(Mg) 109.8 mg/kg, 나트륨(Na) 66.49 mg/kg, 칼슘(Ca) 30.45 mg/kg, 철(Fe) 4.8 mg/kg으로 나타남. *L. paracasei*로 발효한 현미발효물의 품질 규격은 고형분 19.0 ± 0.5 %, 당도(brix) 19.0 ± 1.0, glucose 15.0 ± 0.5 %, 점도 3,100 ± 100 cp, 산도 0.55 ± 0.05 %, pH 3.5 ± 0.1, 일반세균수 불검출(N.D.), 효모수 불검출(N.D.)로 설정함.

2. 무발효물 소재 개발

무발효물을 만들기 위하여 4종류의 동치미 샘플을 이용하여 내산성, 내염성 등을 확인하여 *Lactobacillus* sp. L2 1종을 분리 및 선별하였음. 선별 균주의 생균수가 10⁹이상이 나오는 최적 배양조건(pH 6.8, 30℃, 교반-150rpm)을 확립하였으며, 무발효물은 관능을 통하여 발효 온도는 30℃, 발효 시간은 발효와 숙성시간을 합한 6일로 최적 발효 조건이 설정하였음.

무발효물은 마늘의 유무에 따라 각각 11kcal, 8kcal의 열량을 가지고 있음.

3. 현미· 무 발효물을 활용한 한식음료 개발

현미유산균 발효물과 무발효물을 이용한 새콤달콤하고 시원하며 구수한 맛의 한식음료는 요인설계를 통하여 고칼로리타입(72Kcal)과 저칼로리타입(40kcal)을 제조하였음. 무발효물은 관능평가로 1%씩 동일하게 첨가하였음. 생강농축액을 적용하여 한식과의 연관성, 깔끔함 등의 속성을 높였음. 국내 소비자 조사를 진행한 결과, 고칼로리 타입이 9점 척도에 6.8점으로 나타났고, 저칼로리 타입은 9점척도에 5.6점으로 나타나 음료에서는 칼로리적인 측면보다 맛적인 측면이 더욱 중요한 포인트임을 확인하였음. 그러나, 하루에 몇 번을 마시느냐에 따라 기호도는 변할 수 있을 것으로 사료되고, 이 부분은 추가 연구가 필요함.

4. 음료의 품질 안정화 기술 확립

- 풍미관련 성분 특성 분석

현미 및 무발효물의 주요 성분인 유기산과 유리당 성분 조성에 대한 HPLC 분석 결과 현미발효물에서는 젖산 0.63%, 포도당 8.3% 함유되었고 무발효물에서는 젖산 0.37%, 초산 0.15%, 구연산 0.03% 및 마니톨 0.98% 함유된 것으로 나타났음.

- 기호도 평가 및 품질인자 도출

현미 및 무발효물에 대한 묘사분석을 통해 향, 맛, 텍스처 및 후미에 대한 묘사속성들을 도출하였다. 전반적인 기호도 평가에서 현미발효물과 무발효물은 각각 5.64점 및 4.27점으로 차이를 보였음.

- 초고압, joule 가열, 초음파 처리 등 적용 기술 설정

현미 및 무발효물에 대해 풍미를 유지할 수 있으면서 살균이 가능한 방법을 검토한 결과 열수처리나 Joule 가열조건에 비해 초고압 처리방법이 유리한 결과로 평가되었으며 초고압처리조건은 500 Mpa, 5분이상이었음.

- 설정 적용기술에 의한 살균 효과 및 저장성 평가

현미 및 무발효물을 이용하여 제조한 음료시제품(주관기관 선풍식품 제조)에 대해 초고압처리(500 Mpa, 5분)를 실시한 결과 음료시제품의 초기 총균수는 8.49 log, 젖산균 8.35 log, 효모 및 곰팡이 6.64 log였으나 초고압처리구에 있어서 총균수는 2.01 log, 젖산균수는 2.54 log 그리고 효모 및 곰팡이수는 0으로 격감하였음. 초고압처리구는 4℃ 및 30℃에 4주 간 저장 시 미생물이 증식하지 않음을 확인하였음.

5. 미국인 소비자의 선호 음료 특성 평가

- 미국인 선호 음료 특성 조사

미국인들 대부분은 과실주스를 선호하고 속성으로서 청량감(96%)과 기능성(77%)을 매우 중요하게 인식하였고 음료로 인해 비만(35%), 충치(25%), 당뇨(22%)를 걱정하였으며 인공향과 보존료의 개선을 희망하였음.. 미국인들은 발효음료에 대한 구매의사를 50% 이상 보여 미국인을 대상으로 한 발효음료 시장 확보에는 큰 문제가 없을 것으로 전망되었음.

- 외식 전문가를 통한 평가 속성 개발

전문가들은 속성 평가에서는 기능과 청량감 및 포장을 중요시 하였다. 전문가들 50% 이상은 비만과 당뇨를 문제점으로 지적하였고 인공향이나 보존료의 개선 및 천연 감미료 대체를 원하였음. 발효음료 개발 시 반영해야 될 사항으로서는 향, 맛, 영양, 칼로리, 건강기능성 및 섬유질 중에서 맛이 가장 중요하고 그 다음으로 건강기능성을 제시하였음. 관능속성에 대해서는 과실, 고유향, 고유맛, 단맛, 탄산미를 강하게 하고 신맛과 뒷맛(후미)을 약하게 하길 희망하였음.

- 미국 현지인 소비자 시식 평가

미국인 그룹(3개, 5인/그룹)을 대상으로 음료시제품에 대하여 FGI를 실시한 바 외관을 비롯하여 향, 맛, 마우스펄링 등 대부분의 속성에서 4.0점 내외로 낮게 나타났으며 시제품에 대한 미국인 기호도를 높이기 위해서는 과실향의 부여, 단맛 강화 및 신맛과 알콜맛의 축소가 중요한 개선포인트로 지적되었음.

한편, 뉴욕 및 LA 소비자(약 100명)에 대하여 시식 평가를 실시한 경우에도 FGI 결과와 유사하였음.

- 우수 기호 조건 설정

북미인들은 음료시제품에 대해 낮은 기호도를 보였는데 이는 시제품의 강한 발효취와 강한 신맛 및 약한 단맛이 주요 요인으로 분석되었음.

향후 북미인들의 기호도를 더욱 높이기 위해서는 청량감을 포함하여 레몬과 같은 과실 flavor 부여, 신맛을 줄이고 단맛을 강화하는 방향으로의 개선이 필요함.

본 연구를 수행하면서 음료 시료를 미국지역으로 전달하는데 어려움이 많았으며 소비자 평가에서 강한 발효취와 강한 신맛으로 시식을 거부하는 소비자들이 많아 결과적으로 우수한 평가를 받기에는 한계가 있었음.

발효음식은 익숙해질 때까지 일정기간이 소요될 수 밖에 없고, 특히, 다른나라의 발효음식을 수용할때는 치즈, 김치, 된장 등 과 같이 더욱 시간이 필요할 수도 있을 것으로 사료됨.

그러나 일부 소비자들은 호평을 하는 경우도 있었고 깊고 구수하며 개운한맛 등 전통음료로서 차별적인 풍미를 보이고 건강기능성도 기대되기 때문에 앞으로 주관기관에서 국내외 전시회나 마트 등에서 적극적인 프로모션을 추진할 경우 성공적인 결과를 기대할 수 있을 것임.

목 차

제 1 장	연구개발과제의 개요	18
제 2 장	연구개발수행 내용 및 결과	24
제 1 절	향미가 증진된 한식음료용 현미발효물 및 무발효물 소재 개발	24
제 2 절	현미발효물 및 무발효물을 활용한 한식음료 개발	82
제 3 절	Hurdle 기술을 이용한 품질 안정화 기술 확립	116
제 4 절	미국인 소비자 선호형 한식음료 특성평가	131
제 3 장	목표달성도 및 관련분야에의 기여도	142
제 4 장	연구개발 성과 및 성과활용 계획	143
제 5 장	연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	144
제 6 장	주요 연구사항에 대해 시행기관의 장이 요구하는 사항	144
제 7 장	연구시설·장비 현황	144
제 8 장	참고문헌	145

제 1 장 연구개발 과제의 개요

제 1 절 연구개발의 목적 및 필요성

1. 연구개발의 목적

본 연구는 풍미가 우수하고, 식유섭유가 풍부한 현미·무발효물 소재 개발하고 이를 활용한 장건강 증진 한식음료 개발과 개발 음료의 품질안정화 기술 개발 및 미국인 선호형 한식음료 특성 평가를 목표로 함. 1) 발효기술 최적화를 통해 향미가 증진된 한식음료용 현미발효물 및 무발효물 소재 개발 2) 현미발효물 및 무발효물을 활용한 한식음료 개발함으로써 관련 사업에 기초 연구 자료를 제공하고자 함.

2. 연구개발의 필요성

<전통한식음료 개발의 필요성>

○ 전통음료산업은 다른 음료산업에 비해 국내 농업과 연계가 강하기 때문에 우리의 전통식문화를 발전 계승한다는 차원과 국내농업 발전을 도모한다는 의미에서 적극적으로 육성 발전시켜야 함.(1998, 식품과학회지, 전통음료산업의 육성방안, 한국식품연구원 금준석외)

○ 우리농산물을 이용하여 만든 제품브랜드를 육성하여 국내외 소비의 확대가 필요

○ 한반도의 날씨가 아열대화

지구 평균의 2배에 달하는 온도변화(지난 100년가 1.5도씨)로 우리나라가 아열대화 되고 있음. 이로 인해 열대야 일수 증가, 여름철 기간 증가, 농작물, 해양 생물 등의 변화를 초래하여 우리 생활에 직간접적인 영향을 미치고 있는데, 식품 소비량도 날씨와 무관할 수 없어 점점 음료시장이 증가하고, 고객의 요구에 따라서, 더욱 건강한 음료시장이 커질 것으로 예상됨.

○ 한식요리에 대한 연구 및 제품화, 세계화는 확대되고 있지만, 한식 음료에 대한 연구와 제품출시는 제한적으로 우리의 전통발효기술을 이용한 전통한식음료의 복원 및 현대에 맞는 음료를 개발이 절실함.

○ 예부터 한식음료의 음청류란 술 이외의 기호성 음료를 총칭하는 것으로 삼국시대 이후부터 전해 내려오는 전통 음청류로는 차, 탕, 장, 화채, 식혜, 수정과, 갈수, 숙수, 화채 등으로 구분되는 153가지 종류가 알려져 있음(飲淸類文化 Korean. J. Dietary. Culture. 9: 421-429 (1994)). 이처럼 여러 종류의 전통 음청류가 존재하나 식혜와 수정과에 관해서만 제조 방법, 연관된 품질특성, 기호도 등 다양한 연구가 수행되었을 뿐이 외의 기타 전통 음청류에 대해서는 인지도와 기호도에 관한 연구만이 보고되어 있음.

○ 우리의 발달된 전통 음청류를 개선·발전 시키기 위해서는, 전통발효 기술 및 현대화된 발효기술을 겸비시키고 전통식재료를 비롯한 다양한 식품소재를 이용하여 맛과 향을 향상시킨 음료 개발 연구가 필요함.

○ 즉, 우리 나라는 전통적으로 동치미, 나박김치, 물김치 등의 야채발효식품을 많이 애용하여 왔으며, 특히 동치미 국물과 나박김치 등의 발효액은 갈증 해소용으로 이용되기도 하였으므로 비타민과 각종 무기질, 섬유소 등이 풍부한 과채류를 발효시켜 우리의 입맛에 맞는 건강 지향적 갈증해소음료

로 개발한다면 수입 스포츠 음료의 대체효과와 농가 소득 증대에 기여할 것임.

○ 현대인의 입맛에 맞게 맛과 향에 대한 기호도를 높이고, 저장성이 우수한 혼합과채 및 과채발효 음료를 개발함으로써 저렴한 농산물의 가공에 따른 농가소득의 증대와 식품산업의 발전을 도모할 필요가 있음.

○ 스트레스를 많이 받는 현대인들은 특히, 기호식품 및 건강식품에 대한 관심이 증가되면서 장건강, 식욕증진, 소화촉진, 갈증해소 등을 목적으로 소비되는 음료의 소비 형태가 변화하여 건강 소재를 첨가하지만, 이는 트랜스지방, 포화지방 등의 인공 첨가물, 옥수수시럽, 인공감미료, 고함유 당 등 많이 함유하여 건강한 음료라 하기에는 어려움이 있음.

<현재 음료시장의 화두>

○ 미,일, EU 등 선진국들은 생명자원 R&D 국가전략을 수립하여 생명자원 소재 개발을 국가 최우선 기술개발 과제의 하나로 추진

-향후 바이오기술(BT)은 농업(4%--> 36%)과 산업(2%-->39%) 분야가 75% 이상의 경제적 기여를 할 것으로 예상됨(OECD, '09)

-생명자원 활용 세계 시장 규모는 '03년 약 8천억 불에서 '10년 약 2조 5천억 불 수준으로 계속해서 증가하고 있음.

○ **건강한 삶에 대한 관심 급증으로 건강에 관련된 제품의 수요 증대**

Nutrition Business Journal에 의하면 2010년 세계 시장규모는 약 3,014억 달러로 추정되며 그 중에서 미국이 약 39%의 비중을 차지하고 있는 것으로 추정되며 국내 건강기능식품 시장 규모에 대해서는 정확한 통계치가 제시되어 있지 않지만, 건강기능식품협회에서 매년 상위 20여개의 기업을 대상으로 조사하여 추정한 매출액을 바탕으로 시장 규모를 추정한 결과 2011년 기준 약 3조 9,015억원으로 추정됨. 이는 여러 가지 외부환경요인으로 건강에 대한 관심이 증가하면서 건강기능식품의 수요도 급증한 것으로 사료됨.(2013 가공식품 세분화 시장 보고서-한국농수산물유통공사)

○ **세계적으로 건강식품으로 잘 알려진 김치에 대해서는 건강기능, 향미, 유통기간 연장, 포장, 식물성 김치발효 미생물에 대한 연구 수요 증대**

발효과정에서 비타민 B1, B2, B6, 비오틴(비타민H), 나이아신, pantothenic acid, 이노시톨 등 비타민류를 생성하기 때문에 피로회복 효과가 매우 좋음. 아미노산 GABA는 스트레스를 경감하는 작용이 있고, 노화의 원인인 활성산소를 중화하고, 세포에 독스는 것을 조절하여 노화예방에도 관련됨.(식품저널 2013년 10월)

○ 서울시 보건환경연구원의 보고에 따르면, 시판되는 다양한 음료 총 52건을 검사한 결과, 47건의 제품이 100ml당 3~15g의 포도당, 과당, 설탕을 함유하고 있었으며, 음료 1회 섭취량이 많게는 성인 1일당 섭취 권고량 50g에 미치는 수준으로 점점 당을 많이 함유한 음료가 개발되고, 시판되는 전통 음료 역시 그 기본 본질보다 당을 많이 함유하고 있음.

○ 세계보건기구(WHO)는 지난 2002년부터 하루 당류 섭취기준을 총 에너지 섭취량의 10%로 제시하고 있다. 이는 약 50g에 해당한다. 그러나 WHO는 최근 권장량을 총섭취 에너지의 5%이하로 줄

이는 새로운 예비 권고안을 마련했는데, 확정된다면, 하루 당류 권장 섭취량은 약 25g으로 줄어듦.

<장건강의 중요성>

○ 장은 피부처럼 외부와 맞닿아 있어 외부 물질의 1차 방어선으로서 장 건강의 악화는 장 질환뿐만 아니라 인체 곳곳에 질환을 유발시킬 수 있으며, 특히 장의 permeability의 증가로 인한 다양한 독소 투과의 증가는 acne, Crohn's disease, Cystic fibrosis, endotoxemia, food allergies, liver dysfunction, intestinal infection 등의 다양한 질환의 유발을 증가시킴.

○ 대표적 장질환인 과민성 장 증후군(irritable bowel syndrome, IBS)은 복통 혹은 복부불쾌감, 배변 후 증상의 완화, 배변 빈도 혹은 대변의 형태의 변화 등 특징적인 증상들이 만성적으로 반복되는 기능성 위장관질환으로 유병률은 전체 6.6% (남자 7.1%, 여자 6%)(Han SH, Lee OY, Bae SC, et al. Prevalence of irritable bowel syndrome in Korea), 삶의 질 수준은 0.889로 치질(0.925), 아토피 피부염(0.924)보다 낮은 수치임.(한국보건 의료연구원, 2011)

○ 사람이 섭취하는 많은 종류의 탄수화물 중 난소화성 탄수화물은 장내 미생물에 의해 발효되어 short-chain fatty acids(SCFAs)를 형성하고, 이것은 장내 상피세포의 영양원으로 활용됨(장 에너지원의 70%). 따라서 식이 섬유를 섭취하는 것은 장에 영양을 공급하여 장을 튼튼하게 하고 장의 기능을 정상화 하는 데에 기여하게 됨. 이를 통해 장의 정상작용에 도움을 주며, 장의 barrier function을 향상시키고 점막 Mucin 생성 분비를 촉진 및 장의 permeability 감소를 통해 병원균과 독소의 침입을 저해함. 또한, 장 내 염증을 조절하고, 암의 위험을 줄이는 역할을 함.

<식이섬유의 장건강 증진 기여도>

○ 장을 건강하게 하는 방법의 첫 번째는 장에 영양원 공급을 통하여 장을 튼튼하게 하여 장의 고유의 기능을 정상화하는 것이라 할 수 있을 것임. 대장의 점막은 특히 에너지 결핍상태에 취약하며, 가용 에너지원이 부족한 대장에서 수용성 식이섬유는 가장 중요한 에너지원으로 이용됨. 수용성 식이섬유는 장내 유익한 미생물에 의해 발효되어 단쇄지방산(Short chain fatty acids, SCFAs)을 생성함. 단쇄지방산은 장내 상피세포의 에너지 기질로서 선호되며, 이는 대장의 전체 에너지 소비의 70%에 달함.

○ 수용성 식이섬유는 대장 상피세포의 분화/증식 등을 유도하여 장관의 기능을 정상화 하는 데에 기초가 됨. 기본적으로 변의 bulking, 변의 농도, 변의 규칙성 등의 정상작용에 도움을 주며, 미네랄 흡수를 증가시켜 뼈 건강을 도와 골다공증의 예방 및 치료에 도움이 됨. 또한, 에너지 대사의 조절, 간내 콜레스테롤 수치 저하에도 영향을 끼치고, 장의 barrier function을 향상시키고 장내 유익한 미생물의 증식을 도와 병원성 미생물 등의 장관 내 부착과 성장을 저해함. 또한, 장 내 염증을 조절하고, 암의 위험을 줄이는 역할을 함.

<장건강용 시판음료의 문제점 및 개선방향>

○ 시판되고 있는 대표적인 장건강 관련 음료인 발효유 및 식이섬유 함유 음료의 1회 제공량(70-190ml)당 열량 20-150kcal, 당 4-26g 함유되어 있음. 장 건강에 이로운 성분과 식이섬유가 많이 함유되어 있다 하더라도, 당 함량과 칼로리가 높아 많이 마시게 되면, 동시에 복부비만, 체지방 증가 등을 유발하게 될 수 있음.

○ 원래 전통적인 한식음료는 생약이나 곡물, 채소, 또는 과일을 원료로 발효를 통해 기능성 물질(유기산, 아미노산/펩타이드, 향기성분 등)을 생성하고, 건강음료로서 예로부터 응용되어 왔음. 이들의

생체기능조절 및 질병의 회복이나 예방, 식후 소화기능 향상 등에 관한 가능성이 제시되어 왔으며, 향미가 우수하면서 칼로리도 낮은 대표적인 음료라 할 수 있음.

○ 그러나, 전통적 제조과정에서 시간이 오래 걸리고 발효과정 내 다른 미생물의 오염을 막기 위한 노력과 어려움이 존재함. 따라서, 우리 발효를 통해 증진된 향미와 기능성을 특징으로 한 음료의 제품 및 기술 개발은 한식 음료의 가치를 확대시키고, 현대인들에게 건강한 음료를 제공할 수 있을 것으로 사료됨.

○ 최근 장 건강에 유익한 프로바이오틱 유산균을 이용한 발효제품의 연구개발은 유망한 연구테마로 부각되고 있으며 유당불내증과 알러지 및 콜레스테롤의 문제가 없는 식물성 발효제품에 대한 소비자의 니즈(needs)가 증대되고 있음. 이에 따라 무 혹은 현미와 같은 채소나 곡물을 발효한 동치미 형태의 한식음료 형태는 그 활용도가 매우 클 것으로 기대되고 있음.

○ 현미는 각종 비타민, 미네랄 및 식이섬유를 함유하고 있고 페놀성분 (phenolic compound)과 파이토에스트로젠(phytoestrogen) 등의 파이토케미컬 (phytochemical)을 비롯하여 아라비노자일란 (arabinoxylan), 감마오리자놀(γ -oryzanol) 및 옥타코사놀(Octacosanol) 등과 같은 유용한 생리활성 물질을 함유하고 있다. 무의 경우에는 식이섬유 뿐만 아니라 칼슘 및 칼륨 등의 미네랄 성분과 비타민 C 및 비타민 B군을 다량 함유하고 있음. 무에 함유된 펙틴 성분은 특히 *Bifidobacteria*와 *Lactobacillus*의 성장을 자극하는 것으로 보고되어 장내 유익균 균총의 형성에 유익한 영향을 줄 것으로 기대되고 있음.

○ 따라서 국내산 현미와 무를 활용함으로써 장 건강을 증진시킬 수 있는 한식 스타일의 발효 음료 개발이 가능하고 젯산발효를 통해 소화흡수율 증가와 더불어 우수한 풍미 및 식감개선은 물론 프로바이오틱스(probiotics) 제공효과 등의 시너지 효과를 얻을 수 있을 것으로 기대되고 있음.

○ 다른 한편, 음료의 칼로리에 영향을 미치는 당은 맛에도 영향을 미치는 인자이기 때문에, 당의 저감은 단맛의 강도를 약하게 하거나, 맛의 균형을 상실하게 하여, 기호도에 영향을 미침. 따라서, 건강지향적 음료의 당함량과 칼로리를 낮추면서 기호도를 높이기 위한 기술이 필요함.

○ 그러나, 전통적 제조과정에서 시간이 오래 걸리고 발효과정 내 다른 미생물의 오염을 막기 위한 노력과 어려움이 존재함. 따라서, 우리 발효를 통해 증진된 향미와 기능성을 특징으로 한 음료의 제품 및 기술 개발은 한식 세계화의 중요한 기반이 될 것임.

○ 따라서, 본 과제에서는 식이섬유가 풍부한 우리 농산물인 현미 및 무와 기타 채소를 이용하고, 현미와 무 발효를 통해 생성된 아미노산/펩타이드로 칼로리를 저감하는 동시에 맛을 상승시키며, 현미와 무발효물의 생성된 향기성분과 미네랄이 아미노산/펩타이드의 맛 상승 역할을 보조하게 하며, 발효기술 개발로 이를 극대화하여, 최종적으로는 장건강에 이로우며, 칼로리가 낮으면서 기호도 높은 한식음료를 개발하고자 함.

제 2 절 연구내용

○ 제1세부기관

● 연구개발목표

장 건강 증진용 현미발효물/무발효물 및 한식음료 제품을 개발하고자 함.

● 연구개발내용

1) 한식음료용 현미발효물 및 무발효물 소재 개발

현미의 발효기술 개발

- 현미 발효용 유산균 선별 및 배양조건 확립
 - 쌀천연발효물과 전통누룩 또는 전통 발효주 등의 분리원으로 부터 분리하고 시험 발효를 실시하여 현미발효용 유산균을 선별함(선발기준; 산생성능, 향생성능, 발효 속도, 관능특성, 미생물 동정 등)
 - 선별된 유산균의 배양조건 확립(발효 온도, pH, 배양배지 등)
- 현미의 발효 조건 최적화
 - 원료, 효소량, 가수량 등을 설정하여 담금비를 설정
 - 선별된 미생물의 특성을 고려하여 균접종량, 당농도, 발효온도/시간 등을 설정하여 최적의 발효조건 설정
- 현미 발효물의 타겟 영양성분/향미성분의 정량분석 및 품질 규격화
 - 관능 검사 : 맛속성별 강도, 기호도
 - 총아미노산, 유리아미노산, 식이섬유, 미네랄, 칼로리 등 영양성분 분석
 - 새콤달콤한 향미 특성의 주요 향미성분인 유기산, 유리당, 휘발성 향기성분 분석
 - 주요 품질 지표에 대한 품질 기준 설정

무의 발효기술 개발

- 무 발효용 유산균 선별 및 배양조건 확립
 - 우수한 풍미 동치미 등 무발효 식품으로부터 우세균주 분리 및 동정(API kit, 16S RNA 분석법 활용): 시원하고/새콤달콤한 향생성능, 단백질분해능, 산생성능 측정
 - 우세균주의 배양시험(pH, 발효온도, agitation 조건별 유산균수 및 산도 등 분석)
- 무의 발효 조건 최적화(발효 pattern 정립 및 최적 발효물 제조)
 - 무 기초 발효 패턴 정립
:미생물 발효적성에 맞는 무의 가공형태 검토, 유산균종별 발효양상 확인
 - 기초 발효물의 관능 및 이화학적 성분 분석
:관능적 묘사분석, 산도, pH, 환원당, 유산균수 등 분석
 - 무발효물의 구성비 설정
:무, 소금, 마늘 등 주 원료에 대한 요인설계 통계적 기법을 활용한 구성비별 발효적 성 및 향미적 특성 파악(맛속성별 강도 및 기호도, pH, 산도, 염도, AN, 환원당, 유산균수 등)
 - 무 발효 가공 조건 최적화
:용량, 온도, 균접종량, 발효시간별 발효 양상 조사
- 무 발효물의 타겟 영양성분/향미성분의 정량분석(HPLC or GC-MS) 및 품질 규격화

- 영양성분 분석: 식이섬유, 총아미노산 유리아미노산, 미네랄, 칼로리 등
- 시원/새콤/달콤한 향미 특성의 주요 향미성분 분석: 유기산, 유리당, 휘발성 향기성분 등
- 주요 품질 지표에 대한 품질 기준 설정)

2) 현미발효물 및 무발효물을 활용한 한식음료 개발

- 시판 발효음료 제품의 동향 조사 및 소비자 니즈 분석
 - 유사제품의 특징별 분류, 원재료명 및 함량, 영양성분(칼로리, 당, 식이섬유 등)등의 표시 사항 및 가격 정보 수집
 - 시판제품의 관능적 분석(맛속성별 강도, 기호도)/이화학적 분석(당, 단백질, 산도, pH 등)
 - 문헌 또는 시장조사를 통한 소비자 요구사항 분석
- 식이섬유가 풍부한 부원료를 선정
- 현미/무 발효소재를 활용한 음료 prototype의 배합비 실험설계 및 통계분석
 - Minitab software 활용, 실험설계 기법 중 요인 설계 실시
 - 요인설계 시료별 관능적(기호도 및 향미속성 강도평가:5점척도)/이화학적 또는 영양성분 분석(환원당, 산도, pH, 색도(Lab), 칼로리 등)
 - 반응 최적화(시료별 결과값에 대한 통계처리)를 통한 최적 구성비율 도출
 - 시료별 결과값에 대한 분산분석을 통한 발효소재 함량별 기호도에 미치는 영향 파악
- 음료 prototype의 배합비 최적화
 - 통계적으로 예측된 설계사항 검증 및 prototype 개선(기호도 및 이화학적 품질 특성)
- 개발제품의 타겟 영양성분/향미성분 분석 및 국내 관능평가
 - 식이섬유, 총아미노산, 유리아미노산, 미네랄, 칼로리 등 영양성분 분석
 - 새콤달콤한 향미 특성의 주요 향미성분 분석: 유기산, 유리당, 휘발성 향기성분 등
 - 개발제품의 관능특성과 휘발성 향미성분에 대한 주성분 분석을 통한 상관관계 규명

○ 제2세부기관

● 연구개발목표

품질안정화 기술 개발 및 미국인 선호형 음료 특성을 평가하고자 함.

● 연구개발내용

○ Hurdle 기술을 이용한 품질 안정화 기술 확립

- 풍미관련 성분 특성 분석
- 기호도 평가 및 품질인자 도출
- 초고압, joule 가열, 초음파 처리 등 적용 hurdle tech 설정
- 설정 허들처리에 의한 주요 풍미 성분 및 살균 효과 평가
- 허들처리 음료의 저장성 평가

○ 미국인 소비자 선호형 한식음료 특성 평가

- 미국인 선호 음료 특성 조사
- 외식 전문가를 통한 평가 속성 개발(서양식 및 한식 관련 전문가)
- 설문지 작성 및 미국 현지인 소비자 시식 평가
- 우수 기호 조건 설정

제 2 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 현미 발효물과 무발효물 소재 개발

1. 재료 및 실험방법

가. 재료

본 실험에 사용한 현미는 시중에 판매되고 있는 2013년 국내산을 구입하여 사용하였다. 현미발효액 제조시 사용되는 국균은 선향식품 보유 국균을 사용하였다. 유산균은 현미자연발효물 및 전통주로부터 분리 및 동정하여 사용하였다. 사용된 무는 2013년 국내산이며, 조선무를 구입하여 사용하였다. 또한 마늘은 중국산 냉동 다진 마늘을, 생강은 가공한 농축액을 사용하였다. 소금은 한주소금을 사용하였으며, 유산균은 선향에서 무김치(동치미)로부터 직접 분리한 것을 사용하였다.

유산균 분리를 위한 소재로 무를 이용하여 시원한 맛을 내는 무김치를 선정하였으며, 향미가 좋은 국내 시판 및 집 무김치 4종을 시료로 하였다.

발효물 제조

본 실험에 사용된 현미발효물과 무발효물은 선향식품에서 표준화된 공정과 규격으로 만든 발효물로 적용하였으며 식이섬유는 주피터인터넷서널로부터 치커리 식이섬유를 공급받아 사용하였으며 생강농축액은 MSC사로부터 국산 생강을 17brix로 농축한 농축액을 공급받아 적용하였다.

나. 실험방법

1) 미생물 분리

무김치액, 현미자연발효물 및 전통주 등으로부터 시료 10g 채취하여 멸균수에 10배 희석법으로 희석한 후 stomacher(Interscience, France)로 2분간 균질화 하고 10진법에 따라 멸균 생리식염수로 희석 평판배양법을 이용하여 MRS medium에 도말한 후, 35 °C에서 48시간 배양, 획득된 단일 콜로니를 추가 순수분리 하였다(1차 선별). 1차 선별된 미생물을 BCP agar medium에 접종하여 24시간 배양한 후, 황색(pH 5.2이하) 콜로니를 선정하고, anaerobic 조건하에서 MRS medium에 48시간 배양하여 형성된 콜로니만을 분리하여 사용하였다(2차 선별).

2) 분자적 동정

분리된 미생물은 16S rRNA 결정법으로 동정하였으며 균주의 16S rRNA를 universal primer인 27F(5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3')와 1492R (5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3') primer를 사용하여 증폭시켰다. PCR purification KIT를 이용하여 정제된 PCR product의 염기서열을 제노텍(주)에 의뢰하여 유전 정보를 확보하고, 그 정보를 EzTaxon server 2.1(Jongsik Chun)에서 identify한 후, MEGA 4를 이용하여 phylogenetic tree로 분리된 유산균을 최종 확인하였다.

3) 발효유무확인

동정된 미생물을 무페이스트, 소금(2%), 정제수로 구성된 배지 100 ml에 접종하여 48시간 배양(30°C, 70 rpm) 후 발효 유무를 확인하고 7점 기호 척도법으로 향기 관능평가를 진행하였으며, 기호도가 대조구

보다 높은 균주 혹은 강도평가에서 특징을 보이는 미생물을 최종 선별하였다.

4) 시험발효 실시

동정된 미생물을 현미발효액 100 ml에 접종하여 48시간 배양 후 산생성능, 균생육성, 유리당 이용성 등을 확인하고 5점 기호 척도법으로 향과 맛 선호도를 진행하였으며, 기호도가 대조구보다 높은 균주 혹은 강도평가에서 특징을 보이는 미생물을 최종 선별하였다.

5) 유산균 발효에 적합한 현미발효액 제조

현미발효액제조를 위한 담금비는 현미 29.51%, 정제수 59.04%, 액화효소 0.02%, 국균 0.21% 사용하였고, 당발효와 조여과 과정을 거친후 85 °C에서 15 min 살균하여 사용하였다.

6) 무발효물 및 동치미 제조

구입한 조선무의 불가식 부위를 제거한 다음, 흐르는 물에 행구어 물기를 뺀 후, 무김치용은 무를 육면체 모양으로 절단하고, 무발효물용은 초핑기를 활용하여 무를 곱게 간다. 무김치는 절단된 무를 차곡히 밀폐용기에 넣고 마늘, 유산균과 함께 6% 염수를 이용하여 무가 잠기도록 하여 최종 염도가 3%가 되도록 제조하여 25-30°C 항온기에서 발효를 실시하였다. 무발효물은 같은 무와 소금, 마늘, 정수를 혼합하고, 마지막으로 유산균을 첨가하여 다시 한번 혼합한 후, 밀폐용기에 넣은 후 30°C 항온기에서 일정기간 발효를 실시하여 제조하였다.

7) 이화학 성분 분석

수분함량은 자동 수분 측정기인 ML-50(A&D사)를 이용하여 105°C에서 측정하였고, 아미노태질소 함량은 시료 5g을 250ml로 정용한 다음 여과하여 25ml를 취하고 Formal 적정법으로 정량하였다. 염분농도는 Mohr의 방법을 사용하여 측정하였다. pH는 시료 10g에 40ml 증류수를 가하고 상온에서 2분간 magnetic stirrer를 이용하여 교반하여 pH meter F-11(HORIBA Co. JP)를 사용하여 측정하였다. 적정산도는 시료 10g에 40ml 증류수를 가하고, 0.1N NaOH로 적정하여 pH 8.3이 될 때까지의 NaOH용액 소비ml로 정의하고, lactic acid 환산계수(0.009)를 적용하여, 적정산도(%)로 표시하였다. 0.1N NaOH 소비량(ml)*0.009/시료량(10g)*100환원당함량은 DNS (dinitrosalicylic acid) 비색법으로 측정하였다.

유기산 분석은 HPLC(Shodex KC-811)를 사용하였고, mobile phase는 6mM HClO₄(0.8mL/min)로 40 °C에서 실시하여 refractive index(RI)로 검출하였다. Glucose 함량은 시료를 10 mL 채취하여 14,000 rpm에서 5 min 원심분리 한 후, 상등액을 사용하여 BCS glucose kit(BCS corp.) 방법으로 분석하였다.

8) 미생물 균수 측정

무균적으로 취한 시료 10g을 멸균수에 10배 희석법으로 희석한 후 stomacher(Interscience, France)로 2분간 균질화 하여 10진법에 따라 멸균 생리식염수로 희석하였다. 희석액 0.1ml을 취해 일반세균수는 PCA(Plate Count Agar; Difco, USA)배지에, 곰팡이와 효모는 PDA(potato dextrose agar)배지에 spreading culture method로 접종한 다음 30°C에서 1~3일간 배양 후 계수하였다. 유산균은 BCP(EIKEN Chemical Co., LTD., Japan) 고체 배지에 spreading법을 이용하여 접종한 다음,

35°C 항온기에서 48~72시간 배양하였으며, 배지의 색이 노란빛으로 변한 집락을 계수하였다.

9) 간이 관능적 품질 분석

시료에 대한 충분한 지식과 용어, 평가기준 등을 숙지한 평가원 10명(전문 연구원)을 대상으로 난수표로 표시한 시료에 담아 제시하였으며, 한번에 2~3종류의 시료를 5점 기호 척도법으로 5점 좋다, 3점 보통, 1점 나쁘다로 하여 종합적 기호도를 평가하였으며, 세부항목(향, 색, 맛, 조직감 등)에 대해서는 강도평가로 5점 강하다, 3점 적당하다, 1점 약하다로 평가를 실시하였다. 좀 더 자세한 척도가 필요한 경우에는 9점 척도로 진행하여 세부적인 관능평가를 진행하였다.

10) 통계분석

본 연구결과의 모든 통계처리는 Minitab 통계 소프트웨어를 사용하여, 평균값과 표준편차를 산출하였고, 일원분산분석을 통해 각 처리구간에 유의적인 차이를 신뢰구간 95%수준에서 분석하였으며, 실험설계 중 요인설계법을 활용하여 반응 최적화를 실시하였다.

11) 현미발효물 휘발성 향미성분 분석

샘플에서 제조된 현미발효물 시료는 분석 전 초저온 냉동고 -70°C (일신랩; Model No. DF8514)에서 보관하였고, 분석 전 모든 시료는 냉장고 (4°C)에서 약 3일간 해동하여 분석하였다. 현미발효물 시료 정보는 표 1과 같다.

표 1. 현미발효물 시료 정보

시료	균주	발효 온도 (°C)
Control	현미 액당화 시료	-
LPC25	<i>Lactobacillus paracasei</i>	25
LPC30		30
LPC35		35
LFM35	<i>Lactobacillus fermentum</i>	35
No25	균주 No.1	25
No30		30
No35		35

가) 현미발효물 휘발성 향미성분 추출 (SPME)

해동된 시료를 4°C에서 30분간 3,000 rpm으로 원심분리한 후, 상층액 4 mL를 취하여 20 mL glass vial에 넣었다. 내부표준물질로는 ethanol (J.T. Baker, NJ, USA)에 녹인 3-octanol (Sigma-Aldrich, MO, USA)를 최종농도 1 ppm (w/v)이 되도록 사용하였다. 현미발효물의 휘발성 성분들을 추출하기 위해 headspace-solid phase microextraction (HS-SPME)법을 사용하였다. 각 시료를 30°C에서 30분간 평형상태로 유지시킨 후, SPME fiber (Carboxen /polymethylsiloxane (CAR/PDMS) 75 µm) (Supelco, PA, USA)를 headspace 상에 노출시켜 10분간 휘발성 성분을 흡착시켰으며, GC-MS 주입구 (250°C)에서 5분간 휘발성 성분을 탈착시켰다. 모든 현미발효물 분석은 3

변 반복되었다.

나) 현미발효물 휘발성 향미성분 GC-MS 분석

시료의 휘발성 향미성분을 분석하기 위해 HP 7890B gas chromatograph에 연결된 5977A mass selective detector (Agilent Technologies, USA)가 사용되었다. 실험에 사용된 GC-MS의 조건은 다음과 같다 (표 2).

표 2. 현미발효물 휘발성 향미성분 분석을 위한 GC-MS 분석 조건

Injection temp.	250°C
Split ratio	Splitless
Carrier gas	He (flow rate: 0.8 mL/min)
Oven temp.	40°C (4 min) to 200°C (5 min) at a rate of 8°C/min
MSD transfer line	280°C
Mass scan range	35-200 a.m.u.
Mass spectra ionization energy	70 eV
Column	DB-WAX (30 m length x 0.25 mm i.d. x 0.25 µm film thickness)

다) 현미발효물 휘발성 향미성분 정성 및 정량

현미발효물의 휘발성 성분은 GC-MS의 on-computer library인 W9N08 library (Wiley와 NIST)의 mass spectral data와 비교하여 잠정적으로 동정되었다. 각 시료의 휘발성 향미성분 정량은 GC-MS total ion chromatogram 상에서 각각의 peak area를 내부표준물질의 peak area로 나눈 값을 사용하였다. 각 성분들의 유의적인 차이를 보기 위해서는 SPSS (SPSS Inc., IL, USA)를 이용하여 Analysis of variance (ANOVA)를 수행하였다 ($p < 0.05$).

라) 현미발효물 휘발성 향미성분과 다변량통계 분석

GC-MS로 분석하여 얻은 현미발효물의 휘발성 향미성분의 차이를 비교하기 위하여 SIMCA-P software (SIMCA-P version 11.0, Umetrics, Umeå, Sweden)을 이용하여 Principal Component Analysis (PCA)와 Partial Least Squares Discriminant Analysis (PLS-DA)를 실시하였다. PCA는 x-variable에 compounds 정량 값을 입력하여 이에 대한 차이를 알 수 있는 주성분분석법이고, PLS-DA는 임의로 그룹간의 class 정보를 주어 분석하는 부분최소제곱판별분석법이다.

12) 무발효물 휘발성 향미성분 분석

샘플에서 제조된 무발효물 시료는 분석 전 초저온 냉동고 -70°C에서 보관하였고, 분석 전 모든 시료는 냉장고 (4°C)에서 약 3일간, 상온에서 약 5분간 해동시킨 후, 약 4 g을 취하여 20 mL glass vial에 넣었다. 무발효물 시료 정보는 표 3.과 같다.

표 3. 무발효물 시료 정보

시료	L2균주를 이용한 발효기간	처리 온도 (°C)
N-1	대조구	-
N-2	0일	-
N-3	3일	-
N-4	7일	-
T-1	대조구	80
T-2	0일	80
T-3	3일	80
T-4	7일	80

가) 무발효물 휘발성 향미성분 추출 (SPME)

무발효물의 휘발성 향미 성분들을 추출하기 위해 HS-SPME법을 사용하였다. 각 시료를 30°C에서 30분간 평형상태로 유지시킨 후, SPME fiber (CAR/PDMS 75 μm)를 headspace 상에 노출시켜 10분간 휘발성 성분을 흡착시켰으며, GC-MS 주입구 (250°C)에서 5분간 휘발성 성분을 탈착시켰다.

나) 무발효물 휘발성 향미성분 GC-MS 분석

시료의 휘발성 향미성분을 분석하기 위해 HP 7890B gas chromatograph에 연결된 5977A mass selective detector가 사용되었다. 실험에 사용된 GC-MS의 조건은 다음과 같다 (표 4).

표 4. 무발효물 휘발성 향미성분 분석을 위한 GC-MS 분석 조건

Injection temp.	250°C
Split ratio	Splitless
Carrier gas	He (flow rate: 0.8 mL/min)
Oven temp.	40°C (5 min) to 180°C at a rate of 3°C/min to 200°C (5 min) at a rate of 8°C/min
MSD transfer line	280°C
Mass scan range	35-350 a.m.u.
Mass spectra ionization energy	70 eV
Column	DB-WAX (30 m length x 0.25 mm i.d. x 0.25 μm film thickness)

다) 무발효물 휘발성 향미성분 정성 및 정량

무발효물의 휘발성 성분은 GC-MS의 on-computer library인 W9N08 library의 mass spectral data와 비교하여 잠정적으로 동정되었다. 각 시료의 휘발성 향미성분 정량은 GC-MS total ion chromatogram 상에서 각각의 peak area를 total peak area로 나눈 값을 사용하였다.

13) 한식음료 휘발성 향미성분 분석

샘플에서 제조된 한식음료 시료는 분석 전 초저온 냉동고 -70°C에서 보관하였고, 분석 전 모든 시료는 냉장고 (4°C)에서 약 3일간 해동하여 분석하였다. 한식음료 시료 정보는 표 5와 같다.

표 5. 한식음료 시료 정보

시료	농도	가공처리
----	----	------

L	저칼로리	-
LH	저칼로리	열 (90℃, 15min)
LHP	저칼로리	초고압
H	고칼로리 (단맛↑)	-
HH	고칼로리 (단맛↑)	열 (90℃, 15min)

가) 한식음료 휘발성 향미성분 추출 (SPME)

해동된 시료를 4℃에서 30분간 3,000 rpm으로 원심분리한 후, 상층액 2 mL를 취하여 20 mL glass vial에 넣었다. 내부표준물질은 ethanol에 녹여진 3-octanol을 최종농도 1 ppm (w/v)이 되도록 사용하였다. 한식음료의 휘발성 성분들을 추출하기 위해 HS-SPME법을 사용하였다. 각 시료를 30℃에서 30분간 평형상태로 유지시킨 후, SPME fiber (CAR/PDMS 75 μm)를 headspace 상에 노출시켜 10분간 휘발성 성분을 흡착시켰으며, GC-MS 주입구 (250℃)에서 5분간 휘발성 성분을 탈착시켰다. 모든 한식음료 분석은 3번 반복되었다.

나) 한식음료 휘발성 향미성분 GC-MS 분석

시료의 휘발성 향미성분을 분석하기 위해 HP 7890B gas chromatograph에 연결된 5977A mass selective detector가 사용되었다. 실험에 사용된 GC-MS의 조건은 다음과 같다 (표 6).

표 6. 한식음료 휘발성 향미성분 분석을 위한 GC-MS 분석 조건

Injection temp.	250℃
Split ratio	Splitless
Carrier gas	He (flow rate: 0.8 ml/min)
Oven temp.	40℃ to 90℃ at a rate of 2℃/min to 200℃ (5 min) at a rate of 8℃/min
MSD transfer line	280℃
Mass scan range	35-250 a.m.u.
Mass spectra ionization energy	70 eV
Column	DB-WAX (30 m length x 0.25 mm i.d. x 0.25 μm film thickness)

다) 한식음료 휘발성 향미성분 정성 및 정량

한식음료의 휘발성 성분은 GC-MS의 on-computer library인 W9N08 library의 mass spectral data와 비교하여 잠정적으로 동정되었다. 각 시료의 휘발성 향미성분 정량은 GC-MS total ion chromatogram 상에서 각각의 peak area를 내부표준물질의 peak area로 나눈 값을 사용하였다. 각 성분들의 유의적인 차이를 보기 위해서는 SPSS를 이용하여 ANOVA를 수행하였다 (p<0.05).

라) 한식음료의 휘발성 향미성분과 다변량통계 분석

GC-MS로 분석하여 얻은 휘발성 향미성분의 차이를 비교하기 위하여 SIMCA-P software를 이용하여 PCA와 PLS-DA를 실시하였다.

2. 현미발효물 소재 개발

가. 현미 발효용 유산균 선별 및 배양조건 확립

현미자연발효물과 전통주, 전통누룩 등의 분리원으로부터 스크리닝하고 시험발효를 실시하여 현미 발효용 유산균을 3종 분리함(*L. curvatus*, *Leuc. mesenteroides*, *L. paracasei*). 나머지 1종은 상업적으로 판매 중인 유산균을 대조구(*L. fermentum*)로 사용하였다.

1) 산생성능

아래 그림 1, 2는 유산균 4종에 대한 산생성능을 비교하였다. 발효시간 경과에 따라 산생성력은 *L. paracasei*와 *L. fermentum*이 가장 우수하였다. 하지만 *Leuc. mesenteroides*와 *L. curvatus*는 산생성능이 상대적으로 낮은 수준이었다.

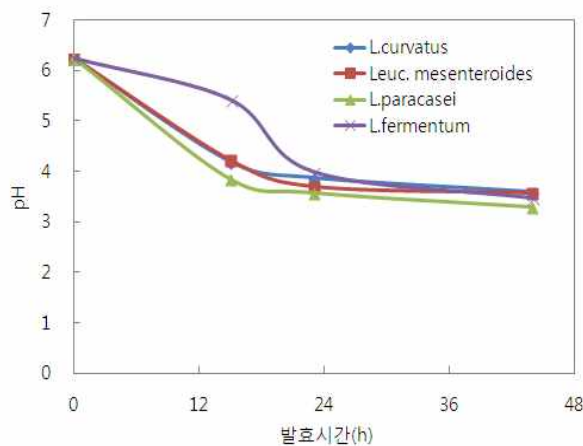


그림 1. 발효시간 경과에 따른 pH 비교.

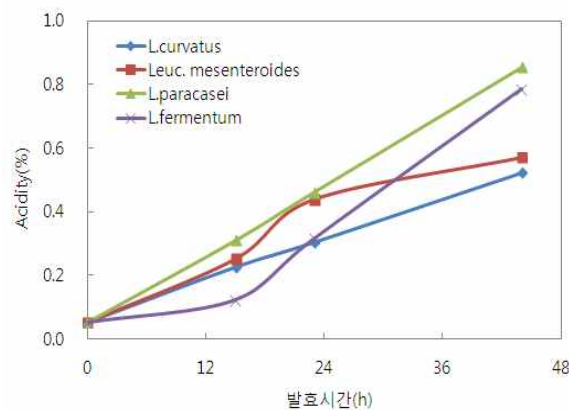


그림 2. 발효시간 경과에 따른 산도 비교.

2) 균 생육성

아래 그림3 을 보면, 분리 유산균에 대한 생육 특성을 분석하였다. *L. paracasei*, *Leuc. mesenteroides*, *L. fermentum* 3종은 현미에서 생육성이 우수하였으나, *L. curvatus*는 생육성이 원활하지 않았다.

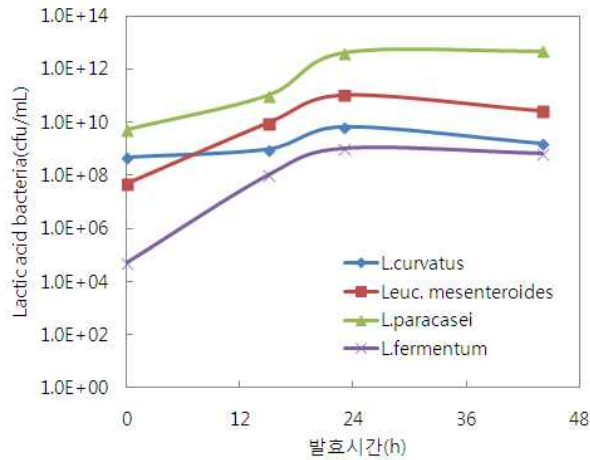


그림 3. 발효시간 경과에 따른 균 생육성.

3) 유리당 이용성

아래 그림 4를 보면, 분리 유산균에 대한 발효후 잔당 함량을 나타내었다. *L. fermentum* 11.9 %, *L.paracasei* 12.2 %, *Leuc. mesenteroides* 12.5 %, *L. curvatus* 12.5%로 분석되었다. 균에 따라 차이가 있지만 유산균 발효시 유리당 사용량은 1.5 % ~ 2.1 %인 것으로 나타났다.

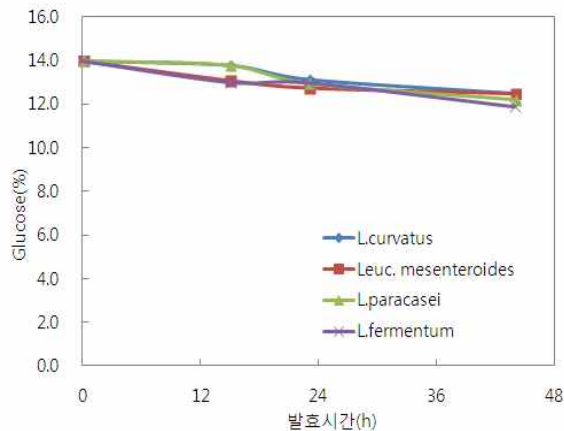


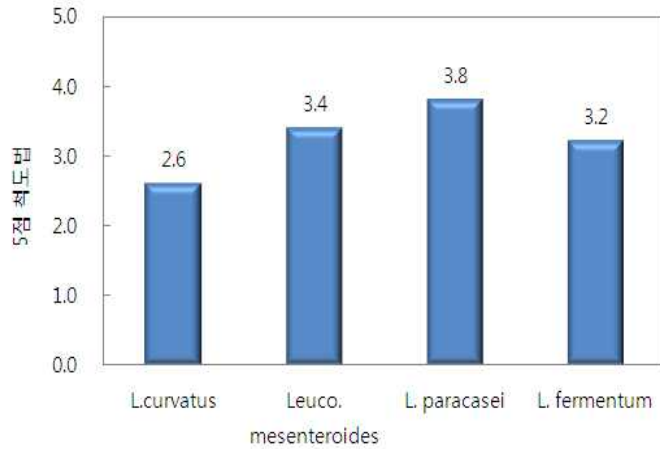
그림 4. 발효시간 경과에 따른 유리당 함량 변화 비교.

4) 관능검사

아래 그림5를 보면, 현미발효액 상에서 유산균 발효(유산균 4종)를 실시하여 선호도(맛과 향)를 5점 척도법으로 평가하였다. 선호도 검사 결과는 *L. paracasei* 3.8점, *Leuc. mesenteroides* 3.4점, *L. fermentum* 3.2점, *L. curvatus* 2.6점 이었다.

그림 5. 유산균 종류별 발효물의 선호도 검사 결과

나. 현미의 발효 조건 최적화



1) 현미발효액(saccharified-brown rice) 제조를 위한 발효 시간 설정

본 사용 균주는 누룩에서 분리된 것으로 현미 당발효에 적합한 glucoamylase 활성이 높은 국균으로 aflatoxin 비검출 곰팡이를 사용함. 자사 국균을 적용하였을 때, 발효 시간에 따른 glucose 함량을 측정하여 starch에서 glucose로의 전환율을 토대로 발효 수율을 계산, 발효 최적 시간을 설정한 결과 15 h으로 도출되었다.

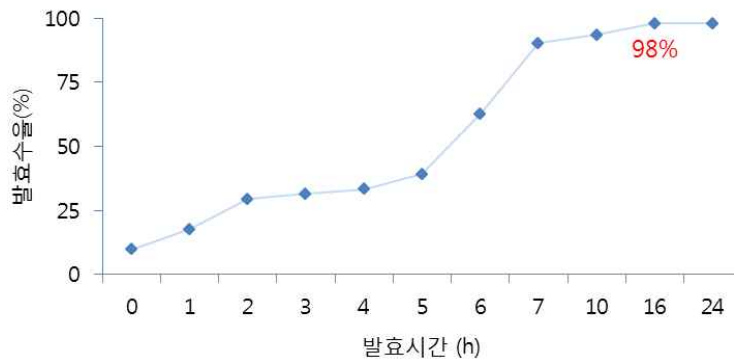


그림 6. 현미발효액(saccharified-brown rice)의 최적 발효 시간 설정 결과.

2) 현미발효액(saccharified-brown rice) 제조를 위한 발효 온도 설정

발효 최적 시간인 15 h 바탕으로 현미 발효 최적 온도를 설정하였음. 발효 완료 후 glucose 전환율을 측정하여 발효 수율을 계산하고, 이에 최적온도를 설정한 결과 최적 온도는 60 °C로 설정되었다.

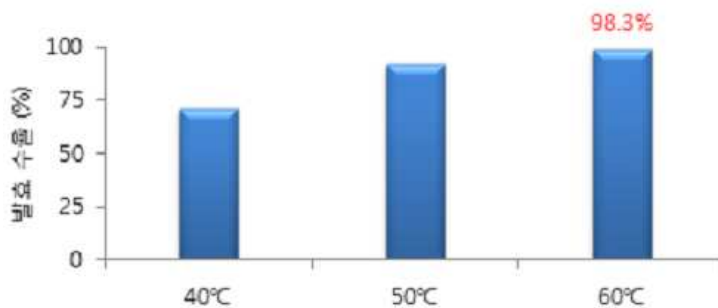


그림 7. 유산균 발효에 적합한 현미 발효액의 최적 온도 설정 결과.

3) 현미발효액(saccharified-brown rice)의 최적화 공정 설정

현미발효액 최적화 발효시간과 온도 설정 완료 후 현미발효액 생산 안정화를 위해 제조공정을 다음과 같이 최적화하여 설정하였다(그림 8).



그림 8. 현미발효액의 제조공정 모식도.

4) 현미발효액(saccharified-brown rice)의 영양성분 분석 결과

샘표식품(주) 국균을 사용하여 60 °C에서 15 h 발효 과정을 거친 유산균 발효에 적합한 현미발효액의 영양 성분 분석 결과는 다음의 표와 같다(표 7).

표 7. 현미발효액의 영양 성분 분석 결과

항 목	영양소	단위	함량
	열량	kcal	148.72
	수분	g/100g	57.20
	단백질	g/100g	3.14
	지질	g/100g	1.27
	회분	g/100g	0.55
탄수화물	당질	g/100g	30.42
	섬유소	g/100g	0.42
무기질	칼슘	mg/100g	4.24
	인	mg/100g	127.11
	철	mg/100g	0.47
	나트륨	mg/100g	0.85
	칼륨	mg/100g	105.93
	비타민B1	mg/100g	0.23
	비타민B2	mg/100g	0.03
	니아신	mg/100g	1.91

표 8. 현미발효액의 유리당 분석 결과

총당	유리당(%)					
	총계	Fructose	Glucose	Sucrose	Maltose	Lactose
22.47	20.70	0.02	20.50	0.00	0.18	0.00

다. 현미발효액을 이용한 유산균 발효조건 최적화

1) 발효초기 당 농도 설정

가) 발효후 선호도 검사 및 잔당 비교 결과

아래 그림 6을 보면, 발효 초기 당 농도에 따른 현미발효물(*L. paracasei* 발효)의 선호도를 비교 하였다. 선호도 검사는 샘표식품 기술연구소 패널 20명을 대상으로 실시하였다. 초기 당 농도가 10 %, 16 %, 20 % 일 때 선호도(5점 척도법)는 각각 1.4점, 3.6점, 2.7점으로 나타났다. 발효 초기 당 농도가 16 % 일 때 선호도(3.6점)가 가장 높게 나타났다. 아래 그림 7을 보면, 발효초기 당 농도에 따른 발효후 잔당량을 비교 하였다. 발효 초기 당 농도가 10%, 16 %, 20 % 일 때 발효후 잔당은 각각 8.80 %, 14.52 %, 19.02 %로 나타났다. 현미 유산균 발효시 당 사용량은 1.0 % ~ 1.5 %를 사용하는 것으로 나타났다(그림 10).

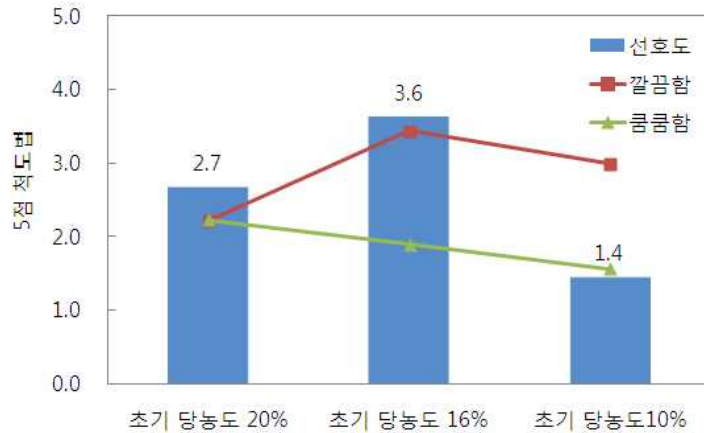


그림 9. 발효 초기 당 농도에 따른 현미발효물의 선호도 결과(24 h 발효).

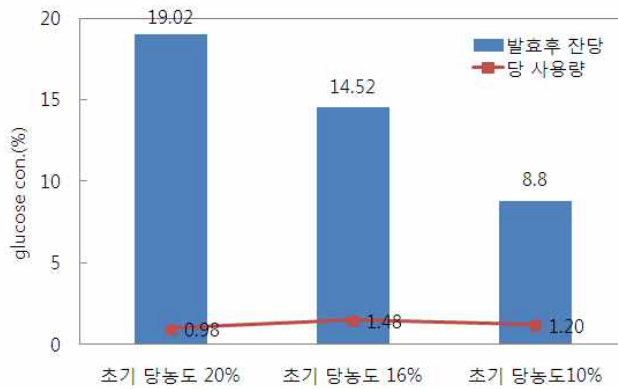


그림 10. 발효 초기 당 농도에 따른 발효후 잔당 결과(24 h 발효).

나) 초기 당 농도 설정

L. paracasei 발효의 최적 당 농도는 발효초기 당 농도에 따른 발효물의 선호도 및 잔당량 등을 고려하여 16.0 %로 설정함.

2) 발효온도 설정

가) 발효 온도별 시료 선호도 검사 및 이화학 성분 비교

아래 그림 11을 보면, 발효온도에 따른 현미발효물(*L. paracasei* 발효)의 선호도(맛과 향)를 검사하여 나타내었다. 발효 온도가 30 °C일 때 가장 선호도가 높은 것으로 나타났다. 콤콤함에 대한 강도는 발효온도 25 °C와 30 °C는 1.8점, 발효온도 35 °C일 때는 2.1점으로 나타나 30 °C 이하로 설정하는 것이 유리할 것으로 사료되었다. 아래 Fig.9를 보면, 발효온도에 따른 현미발효물의 산도와 pH를 나타내었다. 발효온도 25 °C, 30 °C, 35 °C일 때 산도는 각각 0.37 %, 0.49 %, 0.67 %로 발효온도가 높을수록 산도는 높게 나타남. pH는 발효온도가 높을수록 낮게 나타났다(그림 12).

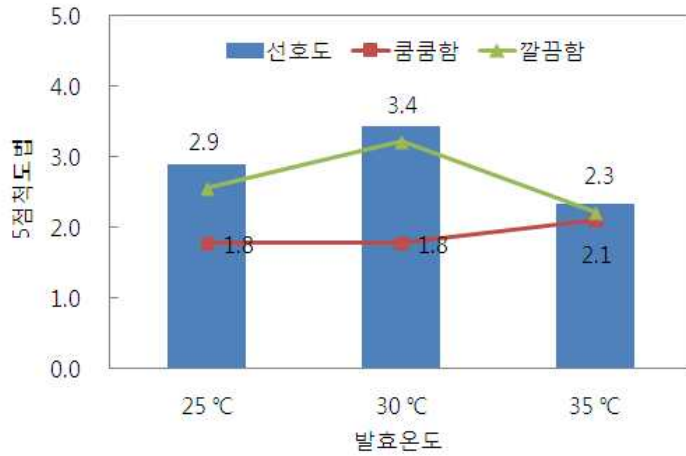


그림 11. 발효온도에 따른 현미발효물의 선호도 비교(24 h 발효)

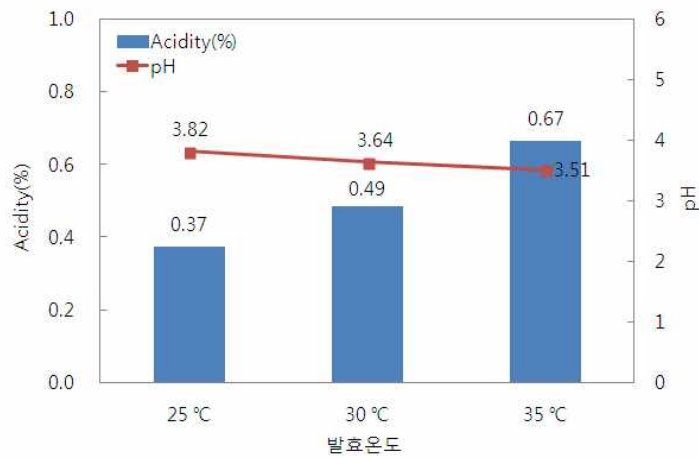


그림 12. 발효온도에 따른 현미발효물의 산도 및 pH 비교(24 h 발효).

나) 발효후 유기산 비교

아래 표 9는 발효온도에 따른 유기산 함량을 나타내었다. 유기산 생성량은 발효온도가 높을수록 생성량이 높게 나타났으며, 유기산 성분은 lactic acid로 나타났다.

표 9. 발효온도에 따른 유기산 함량 비교(24h 발효)

발효온도	citric acid	tartaric acid	malic acid	succinic acid	lactic acid	acetic acid
25°C	0.00	0.00	0.00	0.00	0.34	0.00
30°C	0.00	0.00	0.00	0.00	0.46	0.00
35°C	0.00	0.00	0.00	0.00	0.59	0.00

다) 최적 발효온도 설정

현미발효액을 이용한 *L. paracasei* 발효의 최적 발효 온도는 발효온도에 따른 발효물의 선호도 및 이화학 성분(산도, 유기산, pH 등)을 고려하여 30 °C로 설정하였다.

3) 발효시간 설정

발효 시간별 선호도 및 이화학 성분 비교

아래 그림 13은 발효시간별 시료를 채취하여 선호도(향과 맛)를 평가하였다. 그 결과 발효 32 h일 때 가장 선호도(3.4점/5점)가 높게 나타났다. 콕콕함의 정도는 24 h과 32 h은 낮게 평가된 반면 발효 44 h 시점에는 콕콕함의 정도가 증가하는 경향을 보였다. 그리고 선호도가 가장 높은 32 h 시점의 산도는 0.56 %, pH는 3.5로 나타났다(그림 14).

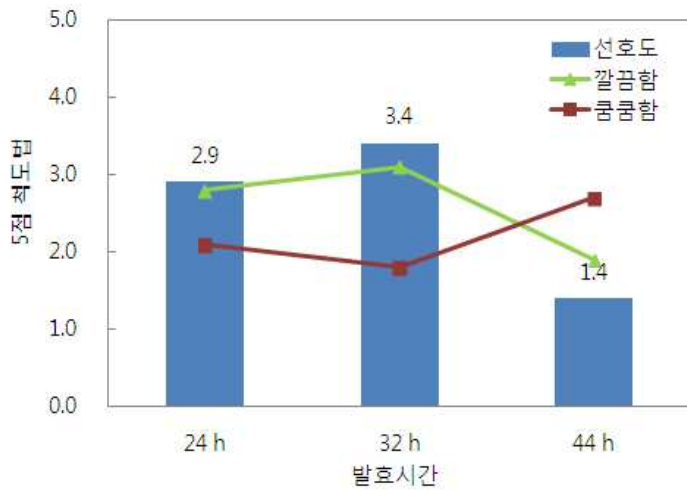


그림 13. 발효시간별 시료에 대한 선호도 결과

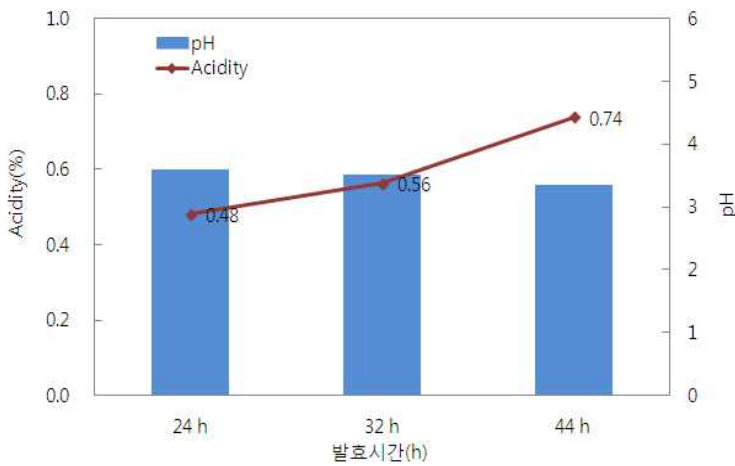


그림 14. 발효시간별 시료에 대한 산도 및 pH 비교

4) 현미발효물의 최적화 공정 설정

L. paracasei 발효를 위한 초기 당농도, 발효온도/시간 등 설정 완료 후 생산 안정화를 위해 제조 공정을 다음과 같이 최적화 하여 설정함.



그림 15. 현미발효물의 제조 공정 모식도.

라. 현미발효물의 타겟 영양성분/항미성분의 정량분석 및 품질 규격화

1) 현미발효물의 타겟 영양성분 분석

아래 그림 16을 보면, 현미발효물의 조단백질 함량은 1.0%, 총아미노산 0.65%, 유리아미노산은 0.01%로 나타났다. 유기산 함량은 lactic acid 성분으로 나타났으며 함량은 0.52%임(표 10). 미네랄 함량은 칼륨(K) 272.88 mg/kg, 마그네슘(Mg) 109.8 mg/kg, 나트륨(Na) 66.49 mg/kg, 칼슘(Ca) 30.45 mg/kg, 철(Fe) 4.8 mg/kg으로 나타났다(그림 17).

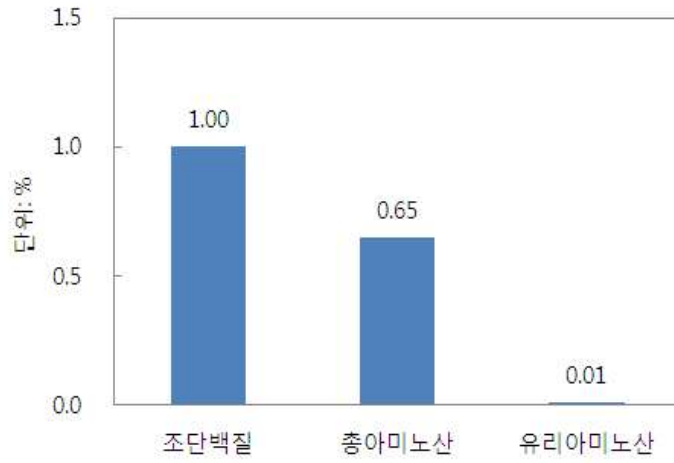


그림 16. 현미발효물 소재의 영양성분 분석

표 10. 현미발효물 소재의 유기산 함량 (단위 : mg/kg)

citric acid	tartaric acid	malic acid	succinic acid	lactic acid	acetic acid
0.00	0.00	0.00	0.00	5228.48	0.00

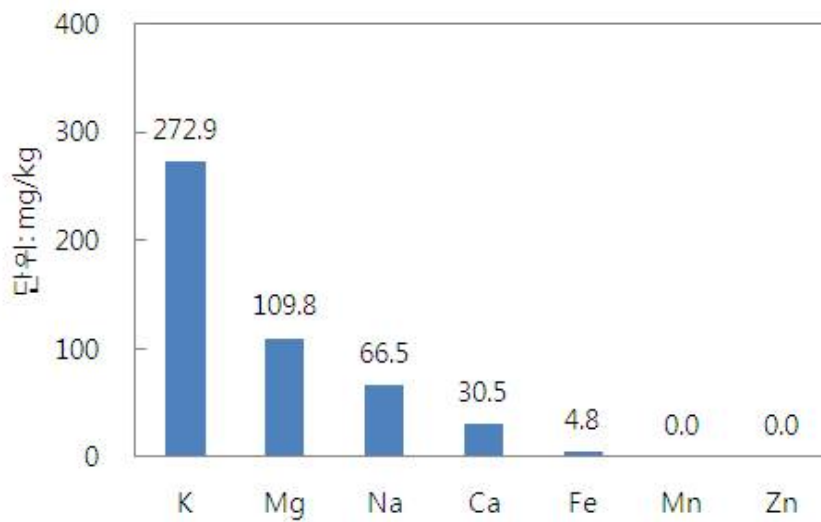


그림 17. 현미 발효물 소재의 미네랄 함량

2) 현미발효물 품질 규격화

아래 표 11은 현미발효물 소재의 품질 규격을 설정하여 나타내었다.

표 11. 현미발효물의 품질 규격

구분	분석항목	분석값	비고
물리·화학적 성분	고형분 함량(%)	19.0 ± 0.5	· 점도 측정시 온도(at 25 ℃) · 식품공전 규격 - 유산균수: 1.0x10 ⁶ cfu/mL 이상 - 살균제품: 세균수 1.0x10 ² cfu/mL 이하 - 대장균군: 음성
	당도(brix)	19.0 ± 1.0	
	glucose(%)	15.0 ± 0.5	
	점도(cp)	3,100 ± 100	
	산도(%)	0.55 ± 0.05	
	pH	3.5 ± 0.1	
미생물	유산균수(cfu/mL)	1.0 x 10 ⁹ 이상	
	일반세균수(cfu/mL)	N.D.	
	효모수(cfu/mL)	N.D.	
	대장균군(cfu/mL)	음성	

마. 현미발효물의 향미성분 분석

1) 현미발효물의 GC-MS 분석 결과

현미발효물 GC-MS total ion chromatogram 그림 18은 결과를 살펴보면 *Lactobacillus paracasei* (LPC) 균주로 발효된 모든 시료 모두 (a, b, c)에서 diacetyl의 peak (5.71분)와 acetoin의 peak (12.44분)가 뚜렷이 보임을 알 수 있다. LPC 35 (d)에서만 LPC 25 (b)와 LPC 30 (c)시료와 다르게 ethyl acetate의 peak (3.94분)이 매우 작게 나타났다. No 30 GC-MS total ion chromatogram (g)에서는 No 25 (f), No 35 (h) 시료에 비해 ethyl acetate의 peak가 크게 나타남을 볼 수 있다. Control (a)와 LFM 35 시료 (e)에서는 다른 현미발효물 시료와 다르게 1-butanol의 peak (9.65분)이 아주 작게 보임을 알 수 있다. 또한, 균 접종 발효과정이 진행되지 않은 control 시료는 전체적으로 동정된 peak의 수가 적었고, 특히 acetic acid peak가 동정되지 않았다.

현미발효물 시료별 GC-MS total ion chromatogram은 그림 18과 같다.

(a) Control

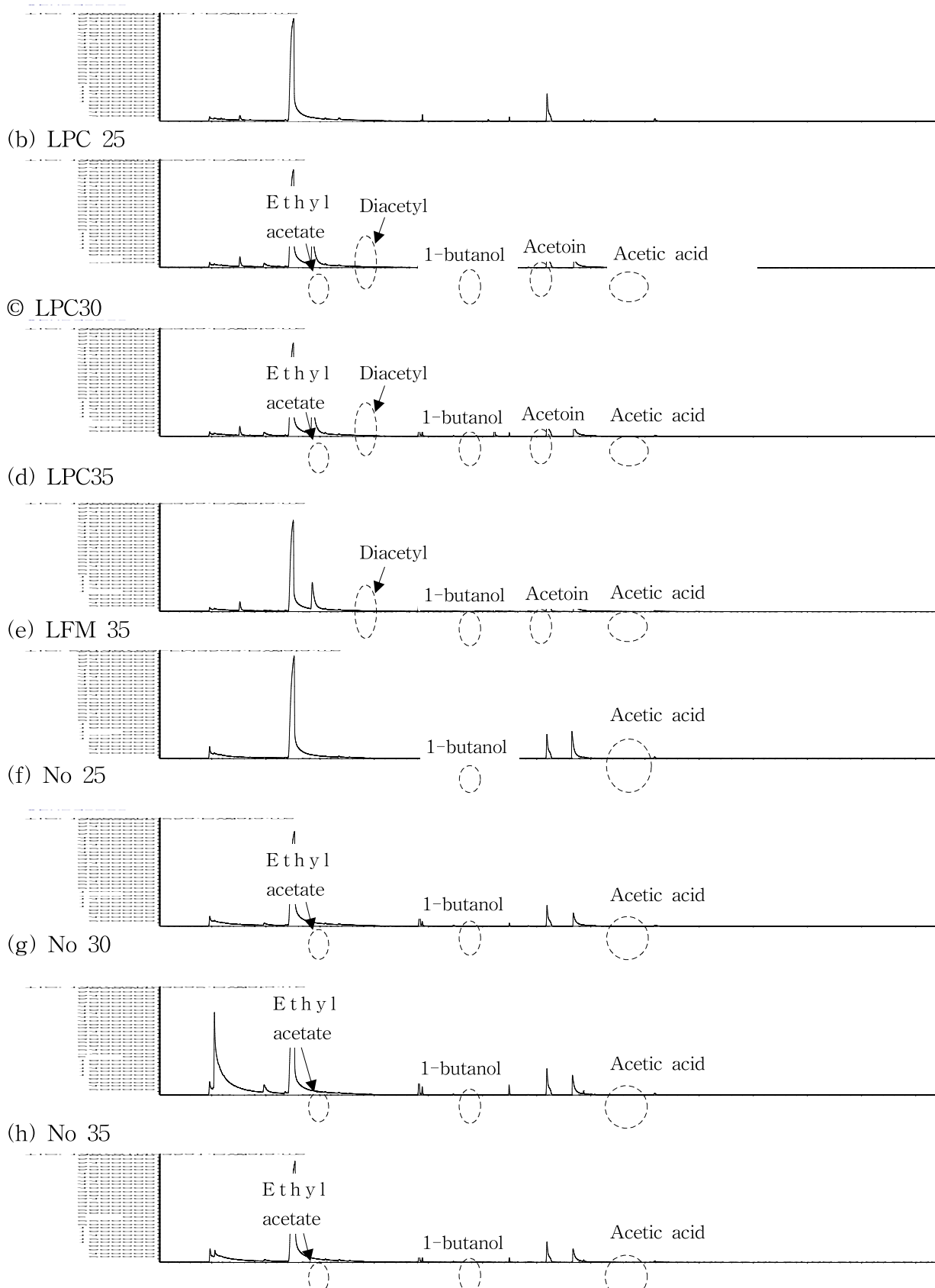


그림 18. 현미발효물의 GC-MS total ion chromatogram

2) 현미발효물 정성 및 정량

현미발효물 8종 시료의 휘발성 성분들을 SPME 추출을 이용하여 GC-MS로 분석한 결과, 다음과 같은 총 32가지의 휘발성 성분들이 동정되었다: acetaldehyde, cyclohexane, furan, acetone, unknown, 2-methylfuran, ethyl acetate, 2-butanone, isovaleraldehyde, diacetyl, unknown 1, chloroform, toluene, dimethyl disulfide, hexanal, isobutanol, xylene, 1-butanol, bromodichloromethane, isoamyl alcohol, isobutenylcarbinol, amyl alcohol, acetoin, 1-hexanol, unknown 2, acetic acid, 2-ethylhexanol, unknown 3, benzaldehyde, 1-octanol, phenol (표 12). Control 그룹에서는 18가지의 휘발성 성분들이 동정되었고, acid, furan, sulfur-containing compound 류는 동정되지 않았다. LPC 균주로 25°C, 30°C와 35°C에서 발효된 시료에서는 각각 21가지, 23가지, 26가지의 휘발성 성분들이 동정되었고, 공통적으로 acid류 (1), alcohol류 (4), aldehyde류 (3), benzene류 (2), carbonyl류 (2), ester류 (1), furan류 (1), ketone류 (1), phenol류 (1), sulfur-containing compound류 (1), 기타 3 종을 정성할 수 있었다. LFM 균주로 35°C에서 발효된 시료에서는 23가지의 휘발성 성분들이 동정되었고, acid류 (1), alcohol류 (7), aldehyde류 (2), benzene류 (2), ester류 (1), furan류 (2), ketone류 (1), phenol류 (1), sulfur-containing compound류 (1), 기타 5종이 정성되었다. 균주 No. 1.으로 25°C, 30°C와 35°C에서 발효된 시료에서는 각각 19가지, 18가지, 19가지의 휘발성 성분들이 동정되었고, 공통적으로 acid류 (1), alcohol류 (6), aldehyde류 (1), benzene류 (2), ester류 (1), phenol류 (1), sulfur-containing compound류 (1), 기타 3종이 정성되었다.

표 12. 현미발효물 휘발성 향미성분 정성

RT (min)	Compounds	Odor Descriptions	Aroma threshold values (in water)
2.34	Acetaldehyde	Pungent, breathtaking; in dilution a nutty alcoholic note; enhances citrus	15 ppb
2.45	Cyclohexane	Somewhat sweet, hydrocarbon odor	
2.88	Furan	Peculiar, sweetish spice-smoke-like, burnt on dilution	
3.03	Acetone	Characteristic solvent odor	450,000 ppb
3.41	Unknown		
3.68	2-Methylfuran	Sweet-gassy, solvent, metallic-burnt with musty nutty notes	
3.94	Ethyl acetate	Ethereal, sharp, wine-brandy like odor	5 ppb
4.13	2-Butanone	Sweet, solvent, acetone-like ketonic odor; fruity camphor odor	50,000 ppb
4.44	Isovaleraldehyde	Pungent, cocoa, green fruity odor; cheesy-sweaty-cocoa fruity in dilution	0.2-2 ppb
5.71	Diacetyl	Strong, buttery odor and taste on dilution	2.3 ppb
6.19	Unknown 1		
6.69	Chloroform		

7.09	Toluene	Paint	
7.84	Dimethyl disulfide	Strong onion, cabbage-like odor	0.06 ppb
8.04	Hexanal	Strong, penetrating, fatty-green, grassy unripe fruit odor	4.5 ppb
8.57	Isobutanol	Breathtaking, sweet, sweaty-chemical; fermented, whiskey-like in dilution	7,000 ppb
9.28	Xylene		
9.65	1-Butanol	Breathtaking, winey, fusel oil-like	500 ppb
9.72	Bromodichloromethane		
10.92	Isoamyl alcohol	Breathtaking, alcoholic odor; in dilution a winey-brandy taste	250 ppb
11.74	Isobutenylcarbinol	Sweet, fresh, green, herbal, fruity	
11.77	Amyl alcohol	Alcoholic-breathtaking, fusel-like odor with a burning taste	4,000 ppb
12.44	Acetoin	Creamy-buttery, yogurt-like odor and flavor	800 ppb
13.68	1-Hexanol	Chemical, winey, slight fatty-fruity odor	2,500 ppb
14.38	Unknown 2		
15.33	Acetic acid	Pungent, sour, vinegar odor with sour, acid taste	22,000 ppb
15.37	2-Ethylhexanol	Sweet, oily-fermenty weak rose odor; fatty fruity-musty, tea-floral taste	830-1,500 ppb
16.01	Unknown 3		
16.14	Benzaldehyde	Odor of bitter almond oil; characteristic sweet cherry taste	350 ppb
16.65	1-Octanol	Orange-rose, waxy, sweet odor; waxy, green, citrus taste	110 ppb
19.89	phenol	Phenolic medicinal odor and taste	5,900 ppb

* RT: Retention time

* Odor description: Flavor-base 2010 Professional, Leffingwell & Associates

* Aroma threshold value: odor threshold in water

표 13. 현미발효물 휘발성 향미성분 정량

	Control	LPC25	LPC30	LPC35	LFM35	No25	No30	No35
Acids								
Acetic acid	-	0.5961±0.0555	0.6472±0.0478	0.6237±0.0453	1.3421±0.0678	0.7940±0.0239	0.8997±0.0325	0.8155±0.0413
Alcohols								
1-Butanol	-	0.3523±0.0075	0.3569±0.0166	0.4028±0.0059	0.0029±0.0027	0.4308±0.0346	0.3616±0.0457	0.3276±0.0023
Isoamyl alcohol	-	0.0208±0.0009	0.0198±0.0012	0.0279±0.0042	0.0112±0.0007	0.0382±0.0019	0.0232±0.0011	0.0329±0.0000 1
Isobutanol	-	-	-	0.0051±0.0013	0.0060±0.0018	0.0109±0.0017	0.0036±0.0005	0.0078±0.0035
Isobutenylcarbinol	-	-	-	0.0290±0.0060	-	-	-	-
Amyl alcohol	0.0093±0.0021	0.0146±0.0020	0.0185±0.0018	-	0.0095±0.0015	0.0120±0.0016	0.0108±0.0017	0.0105±0.0012
1-Hexanol	0.0188±0.0018	0.0193±0.0016	0.0168±0.0039	0.0166±0.0048	0.0250±0.0008	0.0305±0.0016	0.0285±0.0007	0.0259±0.0014
2-Ethylhexanol	-	0.0076±0.0006	0.0078±0.0006	0.0071±0.0002	0.0076±0.0005	0.0064±0.0005	0.0066±0.0009	0.0066±0.0006
1-Octanol	-	-	-	-	0.0026±0.0007	-	0.0021±0.0003	-
Aldehydes								
Acetaldehyde	0.0191±0.0025	0.0112±0.0018	0.0101±0.0018	0.0093±0.0018	0.0092±0.0002	0.0116±0.0015	-	-
Benzaldehyde	0.0125±0.0003	0.0081±0.0002	0.0070±0.0006	0.0064±0.0025	0.0024±0.0004	0.0033±0.0010	0.0021±0.0002	0.0020±0.0002
Isovaleraldehyde	0.0102±0.0024	0.0197±0.0013	0.0138±0.0010	0.0160±0.0013	-	-	-	-
Hexanal	0.0232±0.0068	-	-	-	-	-	-	-
Benzene & Benzene derivatives								
Toluene	0.0385±0.0048	0.0552±0.0142	0.0304±0.0274	0.0485±0.0227	0.0609±0.0091	0.0421±0.0280	0.0791±0.0183	0.0877±0.0257
Xylene	0.0036±0.0010	0.0036±0.0009	0.0032±0.0006	0.0032±0.0003	0.0035±0.0002	-	0.0052±0.0029	0.0059±0.0046
Carbonyls								
Acetoin	-	0.2246±0.0227	0.3076±0.0177	0.2085±0.0104	-	-	0.1193±0.0304	-
2-butanone	0.0096±0.0026	-	-	0.0108±0.0009	-	-	-	-

Diacetyl	0.0235±0.0041	2.4942±0.0884	3.0260±0.0103	1.7279±0.0293	-	-	-	-
Esters								
Ethyl acetate	0.0049±0.0023	0.2683±0.0187	0.2717±0.0163	0.0148±0.0032	0.0328±0.0017	0.1966±0.0063	0.4580±0.0302	0.1469±0.0047
Furans & Furan derivatives								
Furan	-	0.0081±0.0004	0.0076±0.0011	0.0060±0.0020	0.0068±0.0006	0.0073±0.0019	-	0.0067±0.0024
2-Methylfuran	-	-	0.0029±0.0005	0.0052±0.0022	0.0039±0.0017	-	-	0.0046±0.0004
Hydrocarbons								
Cyclohexane	-	-	0.0092±0.0020	0.0100±0.0048	-	-	-	-
Ketones								
Acetone	0.1659±0.0289	0.3114±0.0197	0.2971±0.0148	0.2108±0.1769	0.0155±0.0014	0.0138±0.0027	-	-
Phenols								
Phenol	0.0019±0.0004	0.0021±0.0005	0.0019±0.0005	0.0017±0.0002	0.0011±0.0000 3	0.0014±0.0000 8	0.0010±0.0001	0.0011±0.0001
Sulfur-containing compounds								
Dimethyl disulfide	-	0.0157±0.0117	0.0162±0.0077	0.0242±0.0100	0.0087±0.0011	0.0283±0.0031	0.0133±0.0067	0.0126±0.0011
Miscellaneous								
Unknown	0.0177±0.0015	0.0166±0.0012	0.0162±0.0003	0.0139±0.0035	0.0094±0.0018	0.0169±0.0019	-	0.0124±0.0012
Unknown 1	0.0276±0.0096	-	-	0.0223±0.0007	0.0103±0.0007	0.0298±0.0027	0.0186±0.0033	0.0262±0.0032
Chloroform	0.0768±0.0027	0.0460±0.0081	0.0430±0.0066	0.0373±0.0044	0.0406±0.0082	0.0463±0.0141	0.0332±0.0099	0.0531±0.0063
Bromodichloromethane	-	-	-	-	0.0055±0.0033	-	-	-
Unknown 2	0.0023±0.0001	-	-	-	-	-	-	-
Unknown 3	0.0087±0.0010	0.0089±0.0018	0.0090±0.0014	0.0076±0.0004	0.0057±0.0004	0.0075±0.0006	0.0064±0.0003	0.0070±0.0011

* 정량값: (각 성분 peak area/내부표준물질의 peak area)의 평균 ± Standard deviation

3) 다변량통계 분석을 이용한 현미발효물 향미성분 차이 분석

현미발효물 8종 시료의 휘발성 성분 차이를 알기 위해 다변량통계 분석을 실시하였다. PCA 결과, PC 1과 PC 2에 의하여 균주 처리별 현미발효물 시료가 분리됨을 확인할 수 있었고, 이때 PC 1과 PC 2의 누적 기여율은 54.09%였고, 각각 31.62%, 22.47%의 분산 기여율을 가졌다 (그림 2-2-1.9 (a)). PCA 결과에서 시료가 분리됨을 확인하고 PLS-DA를 실시한 결과 (b), 특히 균주 LPC로 발효된 시료와 균주 No. 1으로 발효된 시료가 PLS 1을 기준으로 분리됨을 볼 수 있었다. 반면 균주 LFM과 No. 1으로 발효된 시료 그룹은 분리되지 않았다.

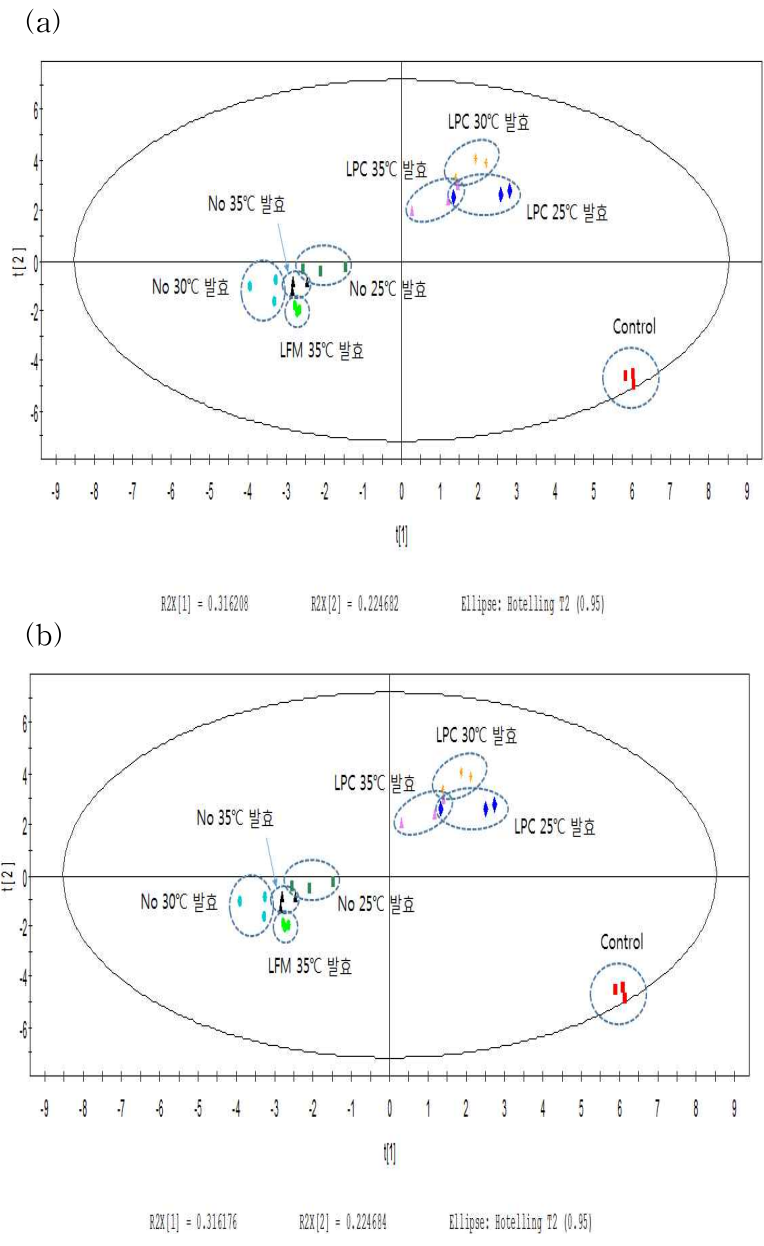
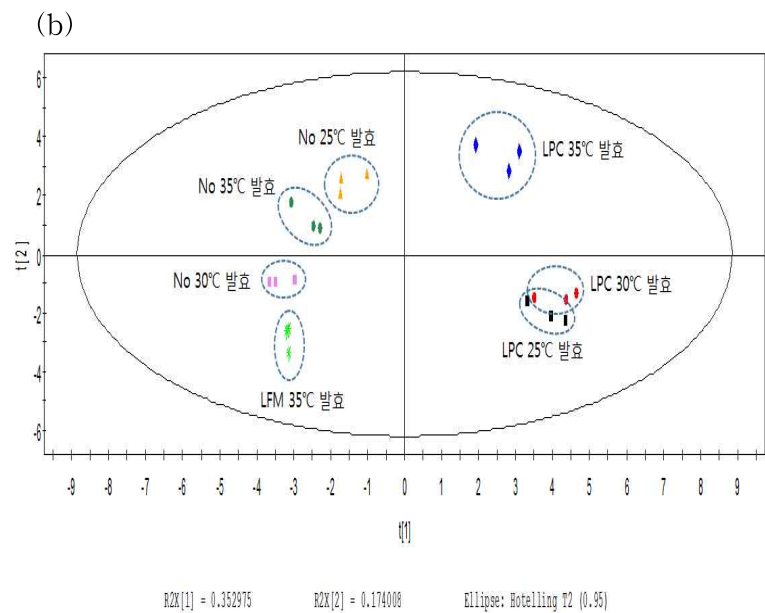
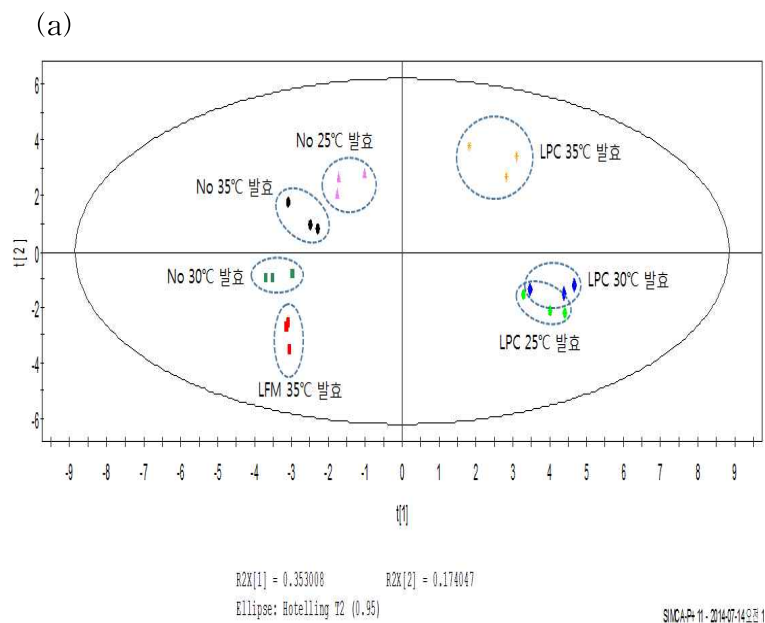


그림 19. 현미발효물 8종의 휘발성 향미성분 PCA 기반 score plot (a), PLS-DA 기반 score plot (b)

Control 시료를 제외한 3종의 균주별 휘발성 성분 차이를 분석하기 위한 PCA 기반 score plot 결과, PC 1을 기준으로 양의 방향에 LPC 균주 처리 현미발효물이 분리되었고, 음의 방향으로 균주 No. 1과 LFM으로 발효된 시료가 분리되었다 (그림 20 (a)). PLS-DA 기반 Variable Important Plot (VIP) value 0.7 이상으로 설정한 loading plot 결과, LPC 시료가 위치한 PLS 1 양의 방향으로 분리에 기여한 물질은 cyclohexane, acetone, unknown, 2-methylfuran, 2-butanone, isovaleraldehyde, diacetyl, dimethyl disulfide, 1-butanol, isobutenylcarbinol, amyl alcohol, acetoin, 2-ethylhexanol, unknown 3, benzaldehyde, phenol이었으며, No와 LFM 시료가 위치한 PLS 1 음의 방향으로 기여한 물질은 ethyl acetate, unknown 1, isobutanol, isoamyl alcohol, 1-hexanol, acetic acid, 1-octanol이었다 (그림 20 (c)).



(c)

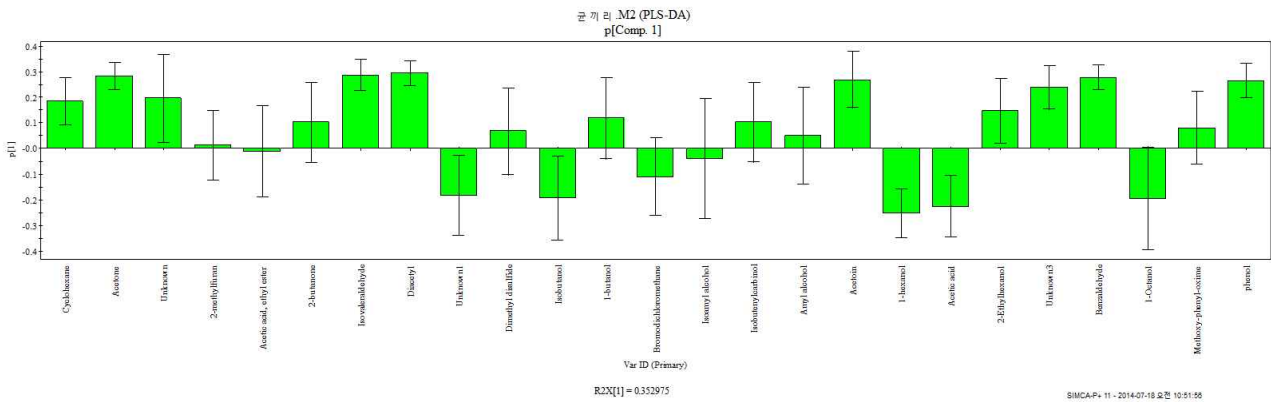
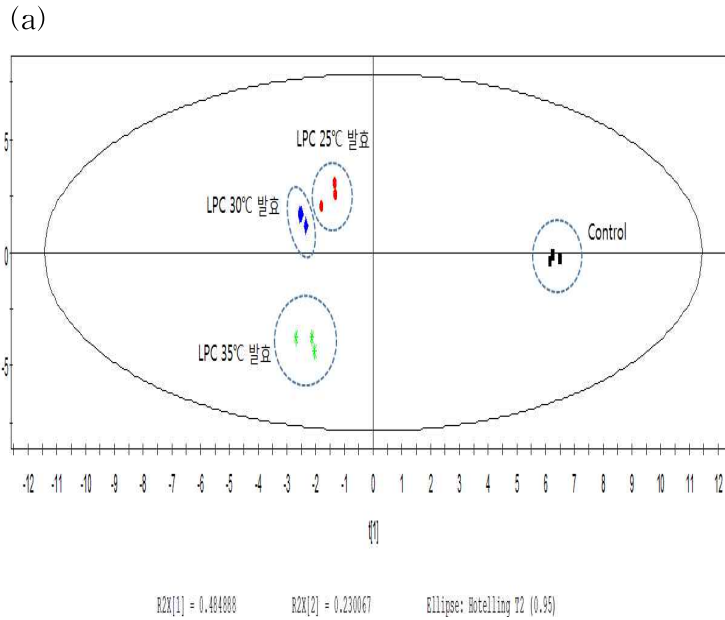


그림 20. 균주별 휘발성 향미성분 PCA 기반 score plot (a), PLS-DA 기반 score plot (b), PLS-DA 기반 loading plot (VIP>0.7) (c)

Control 시료와 LPC 균주에 의해 발효된 현미발효물 시료의 향미성분을 비교하기 위해 PLS-DA를 실시한 결과, PLS 1 (48.49%)에 의해 LPC 균주로 발효된 시료와 control이 분리됨을 확인할 수 있었다 (그림 21 (a)). PLS-DA 기반 VIP value를 0.7 이상으로 설정한 loading plot 결과, control 시료에 acetaldehyde, unknown, 2-butanone, unknown 1, chloroform, hexanal, unknown 2, benzaldehyde의 함량이 높았으며, LPC 균주로 발효된 시료에는 cyclohexane, furan, 2-methylfuran, ethyl acetate, isovaleraldehyde, diacetyl, toluene, dimethyl disulfide, isobutanol, 1-butanol, isoamyl alcohol, isobutenylcarbinol, amyl alcohol, acetoin, acetic acid, 2-ethylhexanol의 함량이 높았다 (그림 21 (b)). 균주 LPC에 의해 발효된 시료는 발효처리하지 않은 control에 비해 furan류, ester류, alcohol류, carbonyl류, acid류, sulfur-containing 물질과 같은 향미성분이 증가함을 알 수 있었다. 이는 발효과정에 의해 현미발효물의 sweet-burnt하고 wine-like, buttery, onion, green-fruity하면서 pungent한 향 특성과 관련이 있을 것으로 사료된다.



(b)

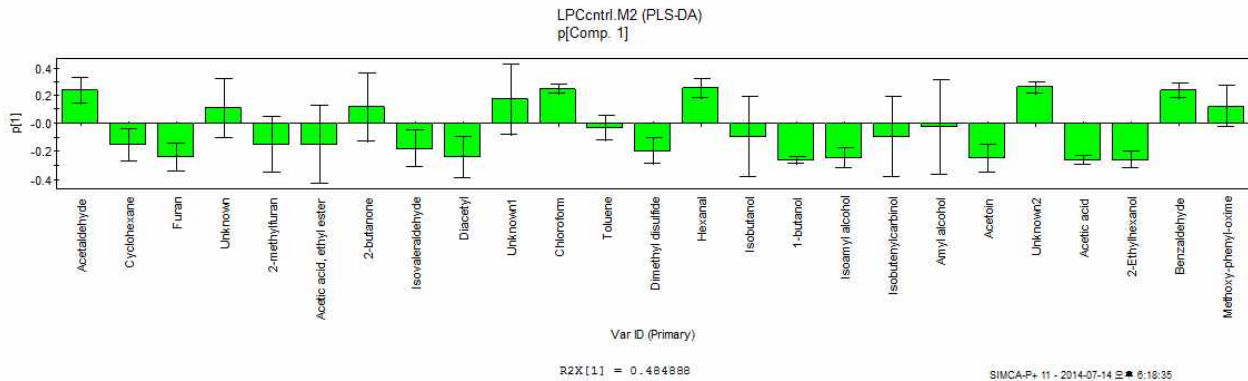
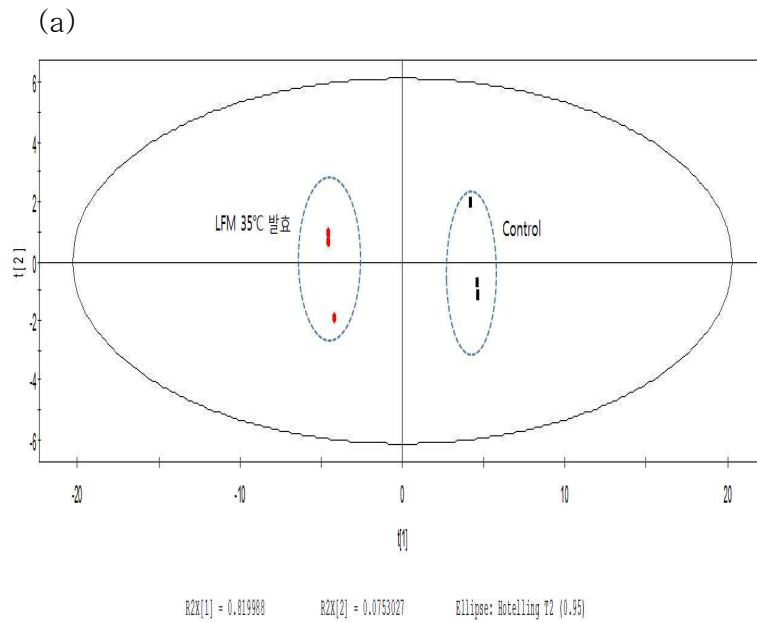


그림 21. LPC 균주로 발효 처리된 현미발효물과 Control 간의 휘발성 향미성분 PLS-DA 기반 score plot (a), PLS-DA 기반 loading plot (VIP>0.7) (b)

Control 시료와 LFM 균주에 의해 발효된 현미발효물의 향미성분을 비교하기 위해 PLS-DA 분석을 실시한 결과, PLS 1 (82.00%)에 의해 LFM 균주 발효 시료와 control 시료가 분리됨을 확인할 수 있었다 (그림 22 (a)). PLS-DA 기반 VIP value를 0.7 이상으로 설정한 loading plot 결과, control 시료 분리에 기여한 물질은 acetaldehyde, acetone, unknown, 2-butanone, isovaleraldehyde, diacetyl, unknown 1, chloroform, hexanal, unknown 2, unknown 3, benzaldehyde, phenol이었고, 균주 LFM에 의해 발효된 시료 분리에 기여한 물질은 furan, 2-methylfuran, ethyl acetate, toluene, dimethyl disulfide, isobutanol, 1-butanol, isoamyl alcohol, 1-hexanol, acetic acid, 2-ethylhexanol, 1-octanol이었다 (그림 22 (b)). 균주 LFM에 의해 발효된 시료는 발효 처리 안 된 control에 비해 furan류, ester류, alcohol류, acid류, sulfur-containing 물질과 같은 향미성분이 증가하였고, 이는 sweet-burnt, breathtaking, wine-like, onion, sweet, fatty-fruity, pungent와 같은 향미 특성을 나타낸다.



(b)

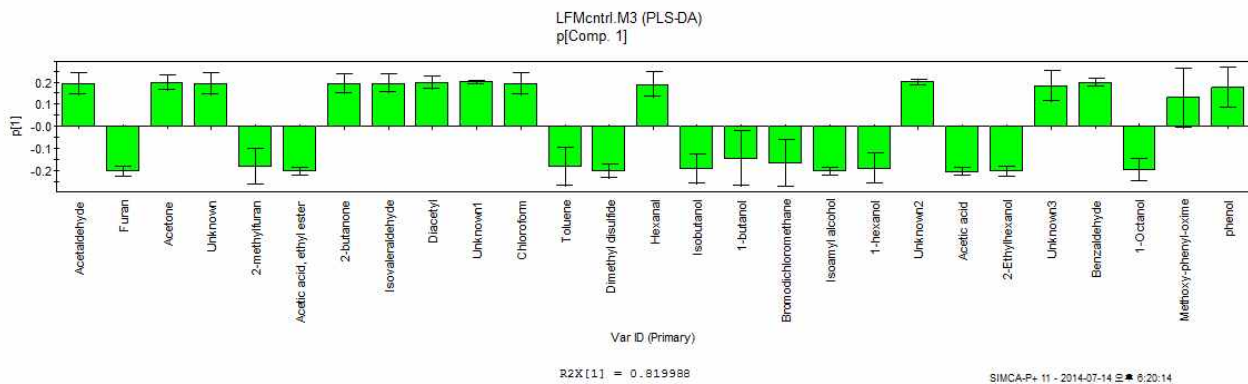


그림 22. LFM 균으로 발효된 현미발효물과 control 간의 휘발성 향미성분 PLS-DA 기반 score plot (a), PLS-DA 기반 loading plot (VIP>0.7) (b)

Control 시료와 No. 1 균주에 의해 발효된 현미발효물의 향미성분을 비교하기 위해 PLS-DA 분석을 실시한 결과, PLS 1 (60.59%)에 의해 균주 No. 1으로 발효된 시료와 control 이 분리됨을 확인할 수 있었다 (그림 23 (a)). PLS-DA 기반 VIP value를 0.7 이상으로 설정한 loading plot 결과, control 시료 분리에 기여한 물질은 acetaldehyde, acetone, unknown, 2-butanone, isovaleraldehyde, diacetyl, unknown 1, chloroform, hexanal, unknown 2, unknown 3, benzaldehyde, phenol이었고, No. 1 균주에 의해 발효된 현미발효물 분리에 기여한 물질은 furan, 2-methylfuran, ethyl acetate, toluene, dimethyl disulfide, isobutanol, 1-butanol, isoamyl alcohol, amyl alcohol, acetoin, 1-hexanol, acetic acid, 2-ethylhexanol, 1-octanol이었다 (그림 23 (b)). 균주 No. 1에 의해 발효된 시료는 발효 처리 안된 control 시

료에 비해 furan류, ester류, alcohol류, carbonyl류, acid류, sulfur-containing 물질과 같은 성분의 함량이 높았고, 이 물질은 sweet-burnt, breathtaking, wine-like, onion, yogurt-like, sweet, fatty-fruity, pungent와 같은 향미특성을 나타낸다.

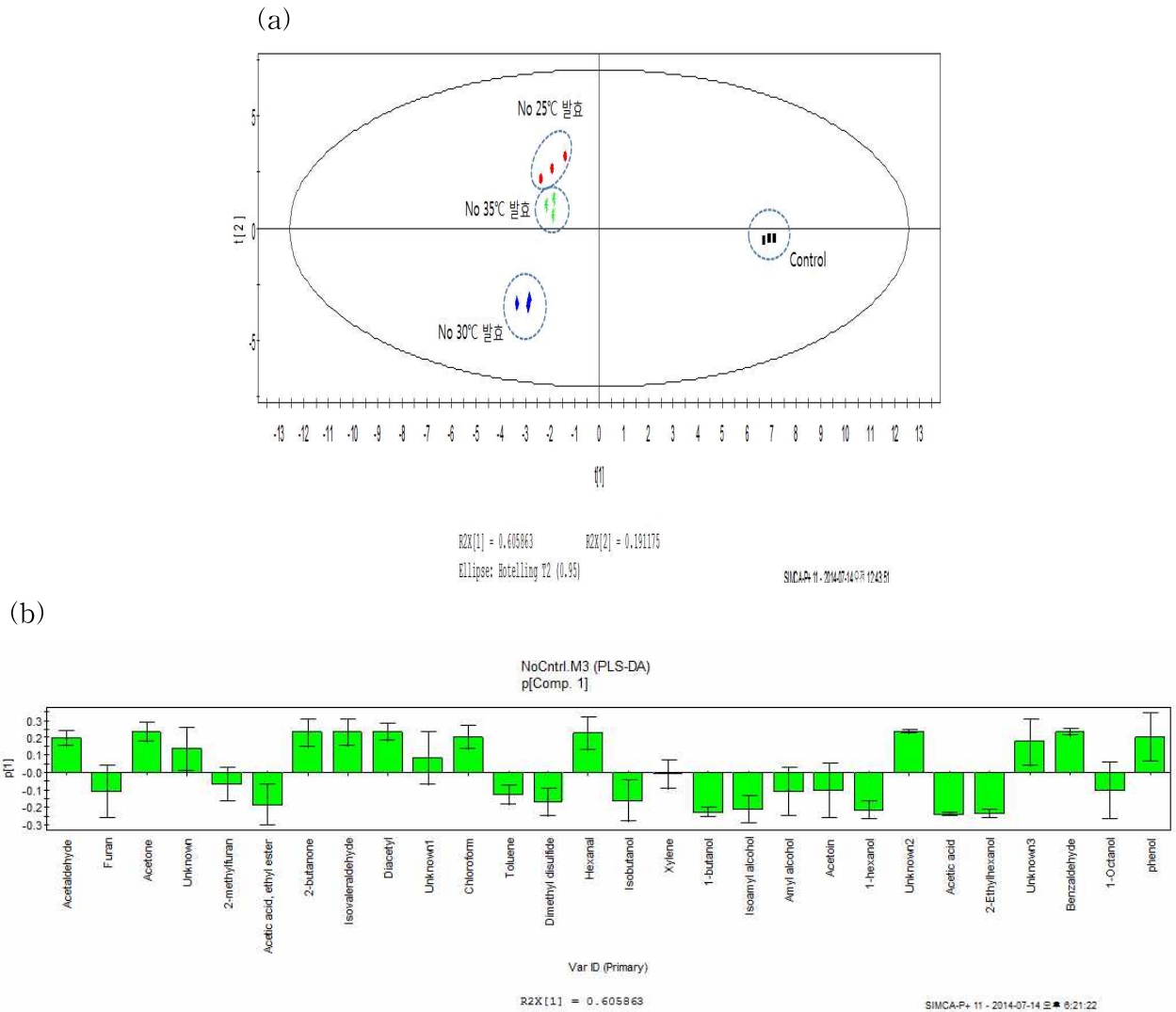


그림 23. 균주 No. 1으로 발효된 현미발효물과 control 간의 휘발성 향미성분 PLS-DA 기반 score plot (a), PLS-DA 기반 loading plot (VIP>0.7) (b)

LPC 균주 처리된 현미발효물의 발효 온도별 시료의 향미 성분 차이를 보기 위해 PLS-DA 분석을 실시한 결과, 발효온도가 높아질수록 시료는 PLS 1 (45.02%)를 기준으로 양의 방향으로 음의 방향으로 변화하는 경향을 볼 수 있었다 (그림 24). 이 때, PLS-DA 기반 VIP value 0.7 이상으로 유의적인 차이가 있는 물질들은 2-methylfuran, ethyl acetate, 2-butanone, isovaleraldehyde, diacetyl, unknown 1, isobutanol, 1-butanol, isoamyl alcohol, isobutenylcarbinol, amyl alcohol, acetoin으로 표 14와 같다.

LPC 30 시료에서 특이적으로 함량이 가장 높은 물질들은 diacetyl, acetoin, ethyl acetate이

다. Butter 향을 띠는 diacetyl은 citrate metabolism을 통해 나오는데, pyruvate와 acetaldehyde가 α -acetolactate synthase로 인해 α -acetolactate를 형성하고, 이는 oxidation으로 diacetyl을 형성한다 (Reineccius, 2006). 현미발효물 균주 배양에 사용된 glucose가 사용되어 citrate metabolism을 통해 diacetyl이 형성되었을 것으로 사료된다. 그렇기에 LPC 균주가 30°C에서 발효되었을 때 glucose를 가장 많이 사용한다 추측할 수 있다. 그러나 diacetyl은 식품에서 그다지 안정적이지 못하고, diacetyl reductase로 인해 acetoin으로 변하여 특유의 향이 줄어들 수 있다 (Reineccius, 2006). Cream-butter와 yogurt같은 향을 띠는 acetoin은 α -acetolactate가 decarboxylate되어 형성되기도 하는데, odor threshold가 diacetyl보다 높아 향이 더 약하다 (Reineccius, 2006; Bartowsky and Henschke, 2004). Wine-brandy 향을 띠는 Ethyl acetate는 ethanol과 발효에 의해 생성되는 자유지방산의 에스테르화에 의해 얻어진다 (Xio, et al., 2001). Ethyl acetate는 과일 주스, 과일 에센스, 탄산음료, 스낵 등에 향료로 사용되기도 한다 (Yuda, 1976).

Isoamyl alcohol, amyl alcohol, 1-hexanol 등과 같이 alcohol fermentation과정 중 생성되는 higher alcohols를 퓨젤유라고 한다 (Lachenmeir, et al., 2008). 퓨젤유는 acetyl-CoA를 통해 생성되기도 하고, 아미노산 생성과정을 통해 생성되기도 하는데, leucine synthesis로부터 isoamyl alcohol, valine synthesis에서 isobutanol, isoleucine synthesis로부터 amyl alcohol이 생성된다 (Kanehisa Laboratories, 2010; Lamsen and Atsumi, 2012). In 등 (1995)에 의하면 주류 중 퓨젤유는 소량으로 존재할 경우 맛과 향을 높여주나, 다량으로 존재 시에는 나쁜 영향을 줄 수도 있다. LPC 발효 현미발효물에서 퓨젤유는 대체적으로 발효 온도가 상승할수록 증가하는 경향을 보이는데, 이는 발효온도가 증가할수록 아미노산 생성이 증가하여 퓨젤유 함량이 증가한 것으로도 추측할 수 있다. Ough 등 (1966)의 연구에서는 *Saccharomyces cerevisiae* 사용했을 때, 해당 yeast cell의 성장이 가장 많이 일어나는 온도인 21-26°C에서 퓨젤유가 가장 높게 나타났다.

Sweet-gassy, metallic-burnt한 향을 띠는 2-methylfuran은 주로 Maillard 반응에서 당의 fragments와 아미노산의 aldol-type 반응으로 threonine의 Strecker aldehyde가 중요 intermediate로서 하계 작용하여 생성된다 (Limacher, 2008). 2-methylfuran은 LPC 균주 처리 시료의 발효온도가 높아질수록 함량이 증가하였는데, Huang 등 (2011)에 의하면 furan류는 carbohydrate model system 내에서 온도가 높을 때 증가한다.

LPC 균주로 35°C에서 발효된 시료에서만 동정된 물질로는 isobutanol, isobutenylcarbinol, 2-butanone이며 공통적으로 sweet한 향을 나타낸다.

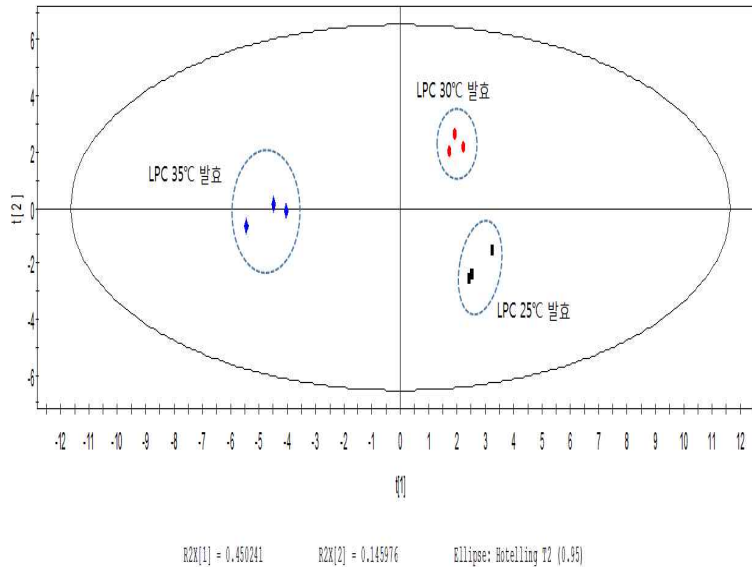


그림 24. LPC 균주로 처리된 시료간의 휘발성 향미성분 PLS-DA 기반 score plot

표 14. LPC 균주로 처리된 시료간의 휘발성 향미성분 정량

	LPC25	LPC30	LPC35
Alcohols			
1-Butanol	0.3523±0.0075a	0.3569±0.0166a	0.4028±0.0059b
Isoamyl alcohol	0.0208±0.0009a	0.0198±0.0012a	0.0279±0.0042b
Isobutanol	-	-	0.0051±0.0013a
Isobutenylcarbinol	-	-	0.0290±0.0060a
Amyl alcohol	0.0146±0.0020a	0.0185±0.0018b	-
Aldehydes			
Isovaleraldehyde	0.0197±0.0013a	0.0138±0.0010c	0.0160±0.0013b
Carbonyls			
Acetoin	0.2246±0.0227a	0.3076±0.0177b	0.2085±0.0104a
2-Butanone	-	-	0.0108±0.0009a
Diacetyl	2.4942±0.0884a	3.0260±0.0103b	1.7279±0.0293c
Esters			
Ethyl acetate	0.2683±0.0187a	0.2717±0.0163a	0.0148±0.0032b
Furans&Furan derivatives			
2-Methylfuran	-	0.0029±0.0005a	0.0052±0.0022b
Miscellaneous			
Unknown1	-	-	0.0223±0.0007a

* p<0.05, Duncan's multiple range test

균주 No. 1으로 처리된 현미발효물의 발효 온도별 시료의 향미 성분 차이를 보기 위해 PLS-DA 분석을 실시한 결과, PLS 2 (22.11%)를 기준으로 음의 방향에 No 25와 No 30 시료가 위치하고, 양의 방향으로 No 35 시료가 위치함을 볼 수 있었다 (그림 25). 이 때, PLS-DA 기반 VIP value 0.7 이상으로 유의적인 차이가 있는 물질들은 acetaldehyde, furan, acetone, unknown, 2-methylfuran, ethyl acetate, unknown1, chloroform, toluene, dimethyl disulfide, isobutanol, xylene, 1-butanol, isoamyl alcohol, acetoin, 1-hexanol, acetic acid, 1-octanol로 표 15와 같았다.

Ough 등 (1966)의 연구에서는 *Saccharomyces cerevisiae* 사용했을 때, 해당 yeast cell의 성장이 가장 많이 일어나는 온도인 21-26°C에서 퓨젤유가 가장 높게 나타났고, 이보다 낮은 온도나 높은 온도에서 함량이 감소하였다. 본 연구에서도, 균주 No. 1을 25°C에서 발효시킨 현미발효물 시료에서 퓨젤유가 가장 높게 정량되었다.

강한 양과 향과 cabbage-like향을 지닌 dimethyl disulfide는 methionine이 분해되어 생성되기도 하고 (Reineccius, 2006), Maillard 반응에서 황 함유 아미노산이 이용될 경우 생성된다고 알려져 있다 (Jarunrattanasri, 2008). 균주 No. 1으로 발효된 현미발효물 시료에서 발효온도가 높을수록 함량이 감소하였다.

균주 No. 1으로 25°C에서 발효된 현미발효물에서만 acetone과 acetaldehyde가 검출되었고, 이 둘은 각각 특유의 solvent odor와, pungent하면서 nutty alcoholic note를 나타낸다. Acetone은 pyruvate가 α -acetolactate로 변형된 후 decarboxylation으로 얻어진다 (Wang, et al., 2013). Acetaldehyde는 pyruvate의 decarboxylation으로 생성된다 (Reineccius, 2006).

또, 균주 No. 1으로 30°C에서 발효된 시료에서만 creamy-buttery하고 yogurt-like 향을 가진 acetoin과 orange-rose, sweet하면서 waxy한 향을 지닌 1-octanol이 동정되었다. Sweet-gassy하고 metallic-burnt한 향을 가진 2-methylfuran은 균주 No. 1으로 35°C에서 발효된 현미발효물에서만 동정되었다. Huang 등 (2011)에 의하면 furan류는 carbohydrate model system 내에서 온도가 높을 때 증가하는데, No. 1 균주 처리 시료의 경우, 가장 높은 온도인 35°C에서부터 furan류의 생성기작 중 하나인 Maillard reaction이 잘 이루어졌을 것이라 추측한다.

Acetic acid는 citric acid와 lactic acid metabolism을 통해 형성되거나 amino acids의 catabolism으로 형성되고, Acetobacter organism의 작용으로 ethanol로부터 생성되기도 한다 (McSweeney and Sousa, 2000; Reineccius, 2006). No. 1 시료에서는 acetic acid가 30°C에서 가장 높은 함량을 보였다. 이는 발효 온도 30°C에서 균주들이 아미노산과 유기산을 가장 활발히 이용한다 추측할 수 있다.

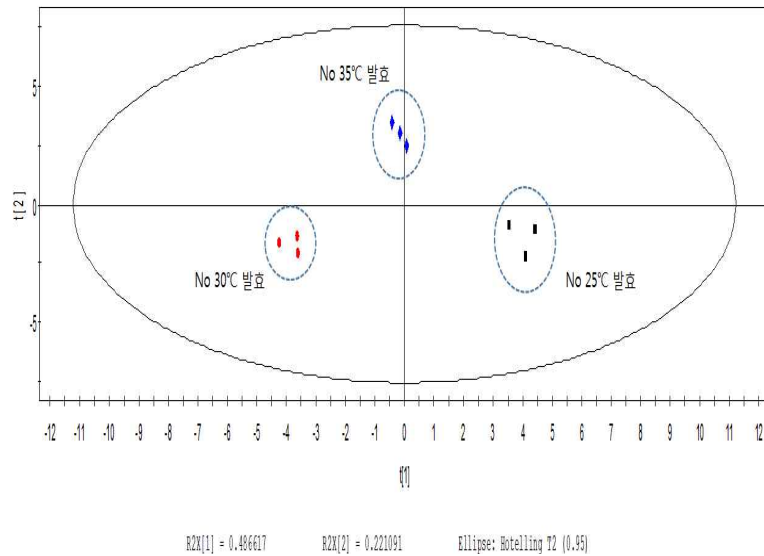


그림 25. 균주 No. 1으로 처리된 시료간의 휘발성 향미성분 PLS-DA 기반 plot

표 16. 균주 No. 1으로 처리된 시료간의 휘발성 향미성분 정량

	No25	No30	No35
Acids			
Acetic acid	0.7940±0.0239a	0.8997±0.0325b	0.8155±0.0413a
Alcohols			
1-butanol	0.4308±0.0346a	0.3616±0.0457b	0.3276±0.0023b
Isoamyl alcohol	0.0382±0.0019a	0.0232±0.0011c	0.0329±0.00001b
Isobutanol	0.0109±0.0017a	0.0036±0.0005c	0.0078±0.0035b
1-hexanol	0.0305±0.0016a	0.0285±0.0007ab	0.0259±0.0014b
1-Octanol	-	0.0021±0.0003a	-
Aldehydes			
Acetaldehyde	0.0116±0.0015a	-	-
Benzene&Benzene derivatives			
Toluene	0.0421±0.0280a	0.0791±0.0183ab	0.0877±0.0257b
Xylene	-	0.0052±0.0029a	0.0059±0.0046a
Carbonyls			
Acetoin	-	0.1193±0.0304a	-
Esters			
Ethyl acetate	0.1966±0.0063a	0.4580±0.0302b	0.1469±0.0047c
Furans&Furan derivatives			
Furan	0.0073±0.0019a	-	0.0067±0.0024a
2-methylfuran	-	-	0.0046±0.0004a
Ketones			
Acetone	0.0138±0.0027a	-	-
Sulfur-containing compounds			
Dimethyl disulfide	0.0283±0.0031a	0.0133±0.0067b	0.0126±0.0011b
Miscellaneous			
Unknown	0.0169±0.0019a	-	0.0124±0.0012b
Unknown1	0.0298±0.0027a	0.0186±0.0033b	0.0262±0.0032c
Chloroform	0.0463±0.0141ab	0.0332±0.0099a	0.0531±0.0063b

* p<0.05, Duncan's multiple range test

3. 무발효 소재 개발

가. 무발효용 유산균의 선별 및 배양조건 확립

1) 과실의 새콤한 향기생성 유산균 1종 분리 및 동정

본 연구에서는 4종의 무김치에서 내염성(5%)과 내산성, 혐기적인 조건을 모두 충족시키는 우수 유산균을 1종(*Lactobacillus parabuchneri* L2) 확보하였다. L2는 현재 자사가 보유한 *Lactobacillus paracasei*(고추발효용 유산균)에 비해 동일기간 무 발효시 전반적인 만족도를 상당히 높였으며(기호척도 3 → 6.5), 전통적인 방식으로 만든 무김치에서 유래한 자연발효균주라는 점도 차별성을 지닐 것으로 기대된다.

선별된 *Lactobacillus parabuchneri* L2는 *Lactobacillus parabuchneri* LMG 11457T(AJ970317)와 분자적으로 100% homology를 보여 관련 균주 문헌을 통한 추가 연구가 용이할 것으로 보이는 반면, API 50CH KIT에서 보여준 type strain과의 탄소원 이용의 차이는 이 균주가 아종일 가능성을 시사하여 형태적 차이, 효소 활성도 등의 추가연구를 통해 보다 명확한 균주 동정이 필요할 것으로 본다.

본 연구에서 사용된 방법들을 통해 무 발효에 적합한 균주가 확보될 수 있음을 확인하였고, 향후 분리조건을 더욱 체계화하여 각지의 재래시장에서 판매되는 물김치, 동치미 등을 활용하여 향미특성에 적합한 신규 유산균을 분리, 다양한 채소발효 유산균 pool을 형성하고자 한다.

가) 순수분리 및 발효유무 확인

무김치(동치미) 4종에서 미생물 분리를 진행한 결과, 1차 분리과정인 내염성(5%) 균주가 총 67 균주가 분리되었다. 산생성이 가능한 균주는 총 28 균주, 혐기적인 조건하에서는 총 24종이 선별되었다(표 17).

이들 균주 가운데 형태학적으로 유사한 균을 제외한 5균주를 선택하여 무발효를 진행한 결과 con, L1, L con, L5, L3, L4, L2 순으로 관능 선호성이 높았으며, 가장 높은 기호도를 보인 L2를 우선 선별하여 분자적 동정을 진행하였다(그림 26)

표 17. 미생물 분리 및 선별 검사

분리 시료	내염성(5%)	산생성능	혐기성 test	선발
시판 동치미	53	17	11	0
집 동치미	14	11	13	1
합계	67	28	24	1

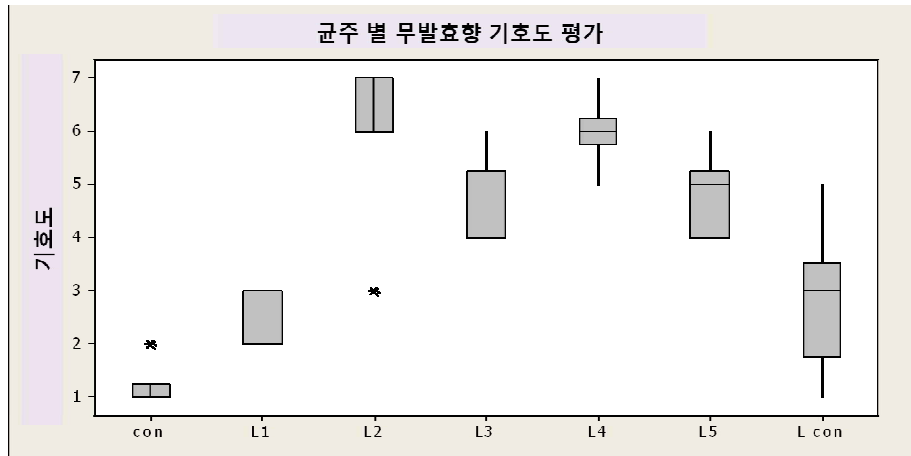


그림 26. L1, L2, L3, L4, L5, L con(*L. paracasei*)의 무발효항 관능적 기호도 평가 결과 [L1~5(분리균주 접종구), con(비접종구), L.con(기 보유균주 접종구)]

나) 분자적 동정 결과

본 연구에서는 27F와 1492R을 이용하여 16s rRNA를 증폭하였고, 1600bp의 PCR 산물을 얻었다. EzTaxon server 2.1(Jongsik Chun), Mega4 등의 프로그램을 이용한 분석 결과 해당 균주는 *Lactobacillus parabuchneri* LMG 11457T(AJ970317)와 100% 일치하는 결과를 보였으며(표 18), phylogenetic tree를 통해 *Lactobacillus sunkii* YIT 11161T, *Lactobacillus otakiensis* YIT11163T, *Lactobacillus buchneri* JCM1115T, *Lactobacillus parakefiri* LMG15133T에 가까운 것으로 나타났다(그림 27).

표 18. L2 균주의 16s rDNA 분석 결과를 이용한 EzTaxon server 2.1(Jongsik Chun) Blast 결과

Rank	Name/Title	Authors	Strain	Accession	Pairwise Similarity	Diff/Total nt	megaBLAST score	BLAST# score	Tasks
1	<i>Lactobacillus parabuchneri</i>	Farrow et al. 1989	LMG 11457(T)	AJ970317	100.000	0/1437	2827	2817	
2	<i>Lactobacillus sunkii</i>	Watanabe et al. 2009	YIT 11161(T)	AB388385	99.236	11/1439	2747	2738	
3	<i>Lactobacillus otakiensis</i>	Watanabe et al. 2009	YIT 11163(T)	AB388386	99.236	11/1439	2747	2738	
4	<i>Lactobacillus kefiri</i>	Kandler and Kunath 1983	LMG 9480(T)	AJ621553	98.886	16/1436	2702	2688	
5	<i>Lactobacillus buchneri</i>	(Henneberg 1903) Bergey et al. 1923	JCM 1115(T)	AB205055	98.819	17/1439	2700	2692	
6	<i>Lactobacillus rahi</i>	Watanabe et al. 2009	YIT 11204(T)	AB388389	98.680	19/1439	2684	2680	
7	<i>Lactobacillus kisonensis</i>	Watanabe et al. 2009	YIT 11168(T)	AB388388	98.541	21/1439	2668	2658	
8	<i>Lactobacillus parakefiri</i>	Takizawa et al. 1994	LMG 15133(T)	AY026750	98.460	21/1364	2531	2527	
9	<i>Lactobacillus parafarraginis</i>	Endo and Okada 2007	NRIC 0677(T)	AB262734	97.963	29/1438	2595	2579	
10	<i>Lactobacillus diolivorans</i>	Krooneman et al. 2002	JKD6(T)	AF264701	97.879	29/1367	2468	2466	
11	<i>Lactobacillus hilgardii</i>	Douglas and Cruess 1936	ATCC 8290(T)	ACGP01000200	97.497	36/1438	2539	2527	
12	<i>Lactobacillus farraginis</i>	Endo and Okada 2007	NRIC 0676(T)	AB262731	96.940	44/1438	2476	2466	
13	<i>Lactobacillus senionis</i>	Okii et al. (in press)	YIT 12364(T)	AB602570	95.619	63/1438	2343	2337	
14	<i>Lactobacillus kimchiicus</i>	Liang et al. 2011	DCY51(T)	EU678893	94.755	75/1430	2228	2212	
15	<i>Lactobacillus malefermentans</i>	(ex Russell and Walker 1953) Farrow et al. 1989	DSM 5705(T)	AM113783	94.406	80/1430	2171	2157	

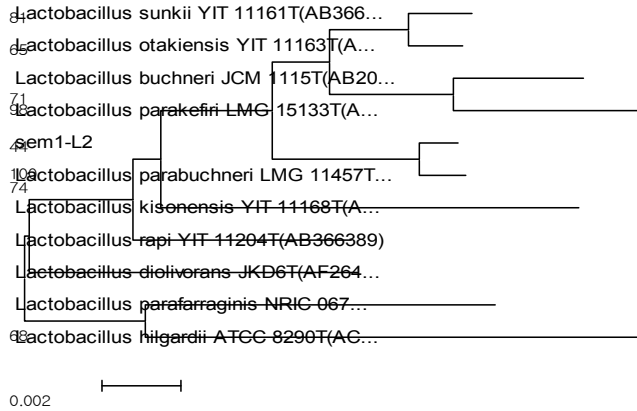


그림 27. MEGA 4를 이용한 phylogenetic tree

다) 미생물 API 50CH KIT 비교 test

비교 결과 L2는 *Lactobacillus parabuchneri* LMG 11457T(AJ970317)와 달리 D-Galactose, D-glucose, D-fructose, esculin, D-maltose를 탄소원으로 이용할 가능성을 보였으며 D-Lactose, starch 이용을 하지 않는 것으로 드러나 기존 균주 *L. parabuchneri* LMG 11457T와 다른 생화학적 특성을 가진 균주로 확인 되었다(표 19).

표 19. *Lactobacillus parabuchneri* LMG 11457T(AJ970317)와 L2의 49가지의 탄소원 이용성

번호	test	L2	Type strain	번호	test	L2	Type strain
0	control			25	Esculin	+	
1	Glycerol			26	Salicin		
2	Erythritol			27	D-Celiobiose		
3	D-Arabinose			28	D-Maltose	+	
4	L-Arabinose	+	+	29	D-Lactose		+
5	D-Ribose	+	+	30	D-Melibiose	+	+
6	D-Xylose			31	D-Saccharose	+	+
7	L-Xylose			32	D-Trehalose		
8	D-Adonitol			33	Inulin		
9	Methyl-B-D-Xylopyranoside			34	D-Melezitose	+	+
10	D-Galactose	+		35	D-Raffinose	+	+
11	D-Glucose	+		36	Starch		+
12	D-Fructose	+		37	Glycogen		
13	D-Mannose			38	Xylitol		
14	L-Sorbose			39	Gentiobiose		w
15	L-Rhamnose			40	D-Turanose		
16	Dulcitol			41	D-Lyxose		
17	Inocitol			42	D-Tagatose		
18	D-manitol	+	+	43	D-Fucose		
19	D-sorbitol			44	L-Fucose		
20	Methyl-a-D-Mannopyranoside			45	D-Arabitol		
21	Methyl-a-D-Glucopyranoside			46	L-Arabitol		
22	N-Acetylglucosamine			47	potassium Gluconate	w	
23	amylgdalin			48	potassium 2-Keto Gluconate		w
24	Aarbutin			49	potassium 5-Keto Gluconate	w	+

2) *L. parabuchneri*(이하 L2)의 배양조건 실험 결과

L2의 최적 생육조건은 30°C, pH 6.8로 나타났으며, 50 ml (250 ml 플라스크) MRS 배지에 균주를 1.5%(v/v) 접종하여 150 rpm에서 배양하는 것이 균주 성장에 가장 효과적임을 확인하였다. 일반적으

로 알려진 통성혐기성균들과 달리 이 균주는 산소와의 접촉을 높여줄수록 잘 자라는 특이점을 보였다. 150 rpm 이상의 조건에서 그 이하 조건에서의 생육과 비교하는 실험을 추가적으로 진행할 것이다. 또한, 균주의 무발효 유무를 확인하기 위해 사용한 무 자연배지와 생육조건을 확인하기 위해 사용한 MRS 배지간의 차이를 줄이고 *Lactobacillus parabuchneri* L2의 최대생균수 조건을 확보하여야 할 것이다. 전체적인 기호도가 대조구 대비 100%이상 높아진 균주임을 감안하면 추후 한식 음료의 기반이 되는 무 발효물의 풍미개선과 생산 시 발효스타터로서 이용가능성이 높을 것으로 판단한다.

가) 배양 온도에 따른 생균수 변화

발효가 18~26시간 경과 중인 상태에서 L2의 온도 조건별(30°C, 35°C, 37°C) 배양 시 각각의 온도에 따른 생육정도의 차이가 크지는 않으나 (생균수 10^{10~11}수준) 30°C의 온도에서 가장 많은 생균수가 확인되었다(표 20). 30°C~37°C 범위에서 대체로 좋은 성장을 보인다고 볼 수 있으며 동 범위 내에서는 30°C를 최적 온도로 볼 수 있다.

표 20. L2의 온도조건에 따른 시간별 생균수

온도(°C)	30		35		37	
배양시간(hour)	18	26	18	26	18	26
생균수(log CFU/g)	9.23	11.22	9.21	10.93	8.91	10.76

나) 초기 pH에 따른 생육 정도 비교

L2는 초기 pH가 6~7사이에서 좋은 생육을 보였으며, 보다 최적의 초기 pH 조건을 찾기 위해 세부구간별 생육조건 실험이 실시되었다. pH 6.0 에 비해 pH 6.5, 7.0에서 높은 생균수를 보였으며, 이에 대한 적합선을 작성한 결과 pH 6.8에서 최고의 생균수를 가질 것으로 예측 되었다(그림 28). 이에 L2의 배양시 초기 pH는 pH 6.7에서 6.8이 되도록 배지를 조성해 주는 것이 L2의 성장에 효과적일 것으로 보인다.

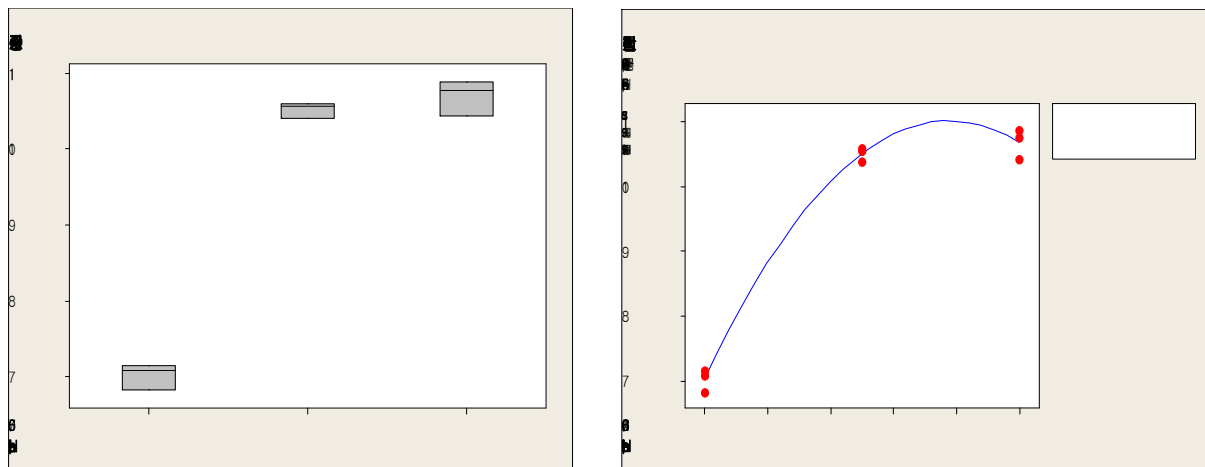


그림 28. L2의 초기 pH에 따른 생균수 및 회귀식

다) 접종량, agitation의 영향 비교 결과

L2를 배지양 대비 1.5%~2.0%(v/v) 접종하는 것이 동일 기간 L2의 빠른 생육에 효과적인 것으로 사료되며, agitation이 높을수록 생균수 및 O.D값이 높아지는 것으로 볼 때, 적절한 교반은 L2의 성장을 앞당길 수 있음을 확인하였다(그림 29).

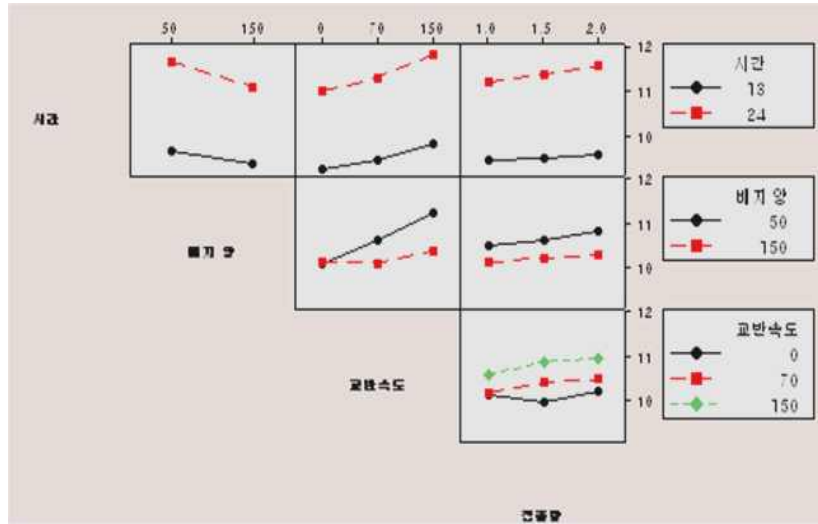


그림 29. L2의 접종량, agitation, 배지 양에 따른 생균수에 대한 교호작용도

나. 무의 발효 조건 최적화

1) 무의 기초 발효 pattern 분석 평가

가) 가공처리별 무의 발효 적합성

무를 발효하는 가장 대표적인 식품은 동치미이나, 대량생산과 품질관리가 어려운 단점을 가지고 있다. 따라서 기 보유하고 있던 유산균(*Lactobacillus paracasei*)을 활용하여 무발효를 실시하였으며, 동치미 향미 특성을 가지면서, 가공적성이 용이한 가공형태를 설정하고자 하였다. 기본적인 동치미 가공형태와 품질균일성 및 자동화 가능한 물성을 갖기 위해 무를 갈아서 무발효물 가공형태로 제조하여(표 21), 발효 양상을 살펴보았다. 그 결과는 그림 30과 표 22에서 보는 바와 같이 적정산도는 무발효물이 동치미보다 약 2배 높았으며, 이는 무함량 기준으로 생성되는 산도 수준을 고려해 볼 때 유사하다고 할 수 있다. 동치미는 10일 이내 발효가 종료되며, 그 후 효모 또는 곰팡이 오염 발생 빈도가 높았다(표 23). 그러나, 무발효물은 오염미생물로부터 안정적이며, 동치미보다 늦은 2~3주차에 동치미향이 발생하고, 상쾌한 신맛을 나타내었다.

무발효물은 무를 갈아서, 소금, 마늘, 유산균 등을 혼합하여 발효숙성하므로 제조공정이 단순하고 품질안정 측면에서도 비교적 유리할 것으로 판단된다.

표 21. 동치미와 무발효물의 가공형태별 배합비

동치미	배합비 (%)	무발효물	배합비 (%)
생무	48.7	같은 무	90
6%염수	46.7	마늘	5
마늘	2.6	소금	2
유산균	2.0	유산균	2
계	100.0	물	1
		계	100

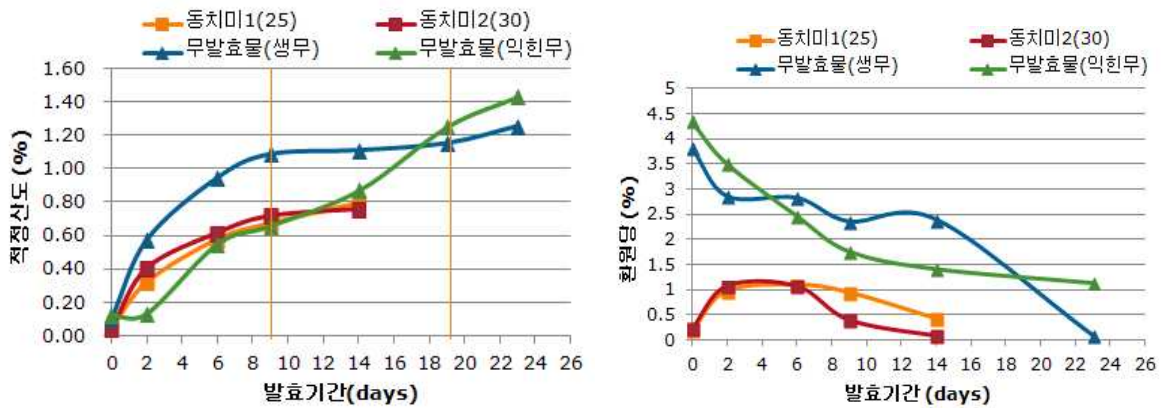


그림 30. 발효온도별 동치미와 무발효물의 가공형태별 발효기간에 따른 산도와 환원당 변화

표 22. 동치미와 무발효물의 이화학적 성분(발효 14일차 종료 후)

가공형태별	염분(%)	pH	산도(%)	환원당(%)	AN(mg%)	수분(%)
동치미	2.92	3.32	0.76	0.09	28	97
무발효물	2.34	3.41	1.11	2.39	42	91.51

표 23. 동치미와 무발효물의 미생물 (발효 14일차 종료 후)

가공형태별	생균수 (CFU/g)			곰팡이
	유산균	효모	일반세균	
동치미	6.7×10^7	1.88×10^4	1.88×10^4	포자 발생
무발효물	1.71×10^8	불검출 (* 10^2 미만)	9×10^2	없음

나) Starter 분리 유산균의 무 발효 적합성 평가

Starter 유산균종별 발효 양상을 확인하여 본 연구과제에서 분리된 유산균이 기존 보유균주와 어떤 차이를 보이는지와 무의 발효 starter균으로써 적절한지를 평가하고자 하였다. 기 보유균주는 *Lactobacillus paracasei*(이하 LC: facultatively heterofermentative)이며, 본 과제에서 분리된 균은 *Lactobacillus parabuchneri*(이하 L2: obligately heterofermentative) 이다. 이를 각 starter로 하여 무 발효 시 무 원료 유래의 당 이용성은 L2가 LC보다 우세하였고, 그에 따른 유기산 생성 속도도 L2가 더 빠르게 나타났으며(그림 31), LC이용 무발효물의 외관은 갈색화되었으나 L2는 외관이 비교적 색상이 밝게 유지되어(그림 32) 본 연구과제 중 분리된 *L. parabuchneri*는 무의 발효에 적합한 균으로 사료된다.

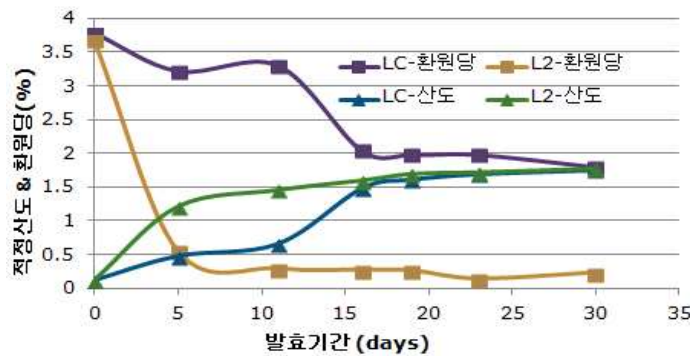


그림 31. Starter 유산균종별 발효기간에 따른 환원당과 산도의 변화

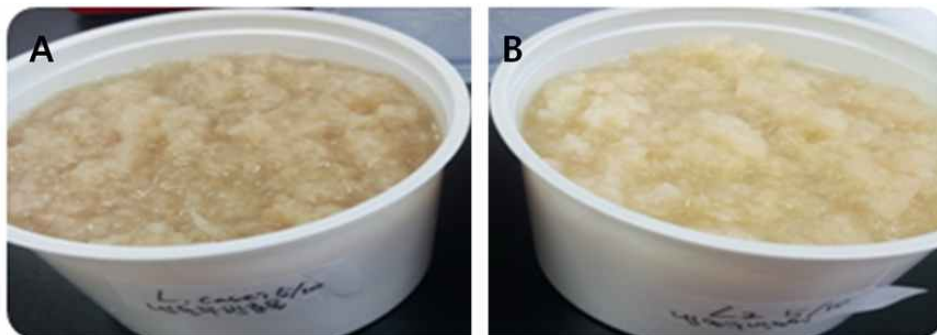


그림 32. Starter 유산균종별 무발효물 30일 발효 후의 외관 (A: LC 균주를 이용한 무발효물, B: L2 균주를 이용한 무발효물)

2) 무발효물의 구성비 설정

가) DOE 통계 프로그램을 이용한 배합비 요인설계 및 최적화

신선한 동치미 향미 생성을 위해 동치미의 가장 기본적 재료인 무와 소금, 마늘을 구성물로 하여 배합비를 설정하고자 하였다. 무발효물의 구성요소 3요인에 대해 2수준으로 중심점을 포함하여 요인설계 시 총 5가지 배합비가 생성되었고, 두 반복하여 시료를 제조하였으며, 이화학 분석 및 관능평가를 실시하였다(표 18). 무발효물의 산도가 높을수록 동치미의 신맛을 느낄 수 있었으며, 염도가 낮을수록 산도는 높게 나타났다. 무발효물의 구성비 설정을 위한 반응 최적화는 관능평가 결과에 의해 실시되었으며, 무발효물의 전반적기호도에 가장 큰 영향을 미치는 구성물은 소금>무>마늘 순이며, 마늘 함량이 증가할수록 동치미향과 특쓰는 향미 강도가 상승하며, 동시에 불쾌취 강도도 높아지는 것으로 나타났다(표 24). 반응 최적화 도구를 사용하여 설계된 배합비는 무70%, 마늘5%, 소금2%이다(표 25).

표 24. 실험설계법에 의한 무발효물의 구성비별 이화학적 성분

No.	요인설계배합비			무발효물(5일발효)의 이화학적 성분						
	무	마늘	소금	수분 (%)	염도 (%)	pH	산도 (%)	환원당 (%)	알코올 (%)	AN (mg%)
1	70	1	5	89.68	5.28	4.26	0.53	2.59	0.00	65.20
2	90	1	2	91.83	2.46	3.71	1.10	1.24	0.00	52.40
3	70	5	2	92.04	2.35	3.79	1.07	0.77	0.04	52.30
4	90	5	5	87.43	5.20	5.49	0.13	3.94	0.00	52.60
5	80	3	3.5	90.58	3.79	3.92	0.80	1.58	0.00	51.50
1-1	70	1	5	89.54	5.29	4.47	0.48	2.55	0.00	42.40
2-1	90	1	2	92.22	2.32	3.75	1.04	1.10	0.00	49.00
3-1	70	5	2	92.08	2.45	3.82	1.10	0.75	0.00	51.40
4-1	90	5	5	88.15	5.22	4.96	0.17	3.13	0.00	55.40
5-1	80	3	3.5	90.63	3.79	3.81	0.92	1.03	0.00	51.50

표 25. 실험설계법에 의한 무발효물의 구성비별 관능평가 결과 및 반응 최적화

NO.	전반적 기호도	동치미향 강도	톡쏘는향 강도	신맛 강도	불쾌취 강도	최적 배합비		
						무	마늘	소금
						90.0	5.0	2.0
						70.0	1.0	2.0
						최적 반응식		
						전반적 기호도		
						최대값		
						최소값		
						동치미향 강도		
						최대값		
						최소값		
						톡쏘는향 강도		
						최대값		
						최소값		
						신맛 강도		
						최대값		
						최소값		
						불쾌취 강도		
						최대값		
						최소값		
						산도		
						최대값		
						최소값		

나) 무발효물의 배합비 수정

앞서 실험설계법에 의한 무발효물 관능의 통계적 분석 결과 전반적 기호도에 영향을 미치는 인자로 동치미향 강도가 양의 상관성을 불쾌취가 음의 상관성을 나타내었으며, 무발효물의 구성물 중 마늘은 동치미향(긍정적 관능요소) 뿐만 아니라, 불쾌취(부정적 관능요소)를 동시에 상승시키므로, 적절한 수준에서 그 양을 조절할 필요성이 있을 것으로 생각되었다. 따라서, 마늘향에 대한 부정적인 의견과 원 재료비용을 고려해 그 함량을 3% 수준으로 조절하여 최적 수준으로 나타난 5%와의 발효 양상과 관능평가를 비교분석해 보고자 하였다. 그 결과 마늘함량 5%와 3% 무발효물의 각 발효양상에 차이가 없었으며(그림 33) 관능적인 측면에서도 큰 차이가 없어 차후 진행시에는 마늘을 3%로 설정하여 한 식음료 prototype 개발에 적용하고자 하였다.

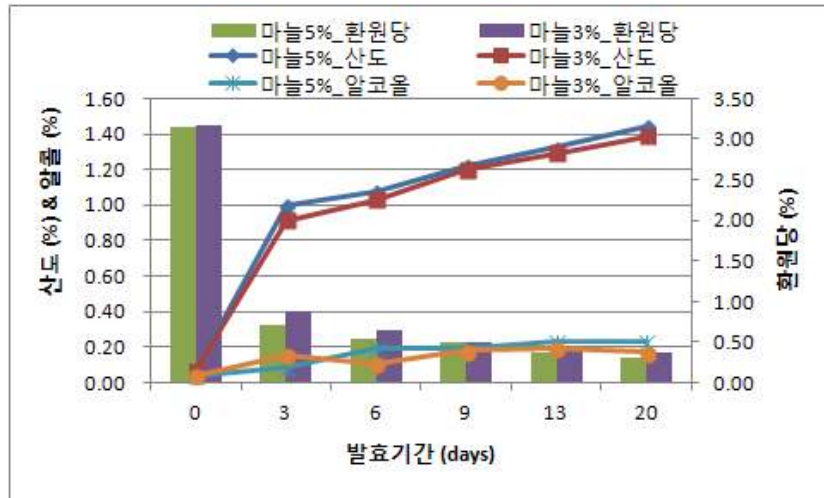


그림 33. 마늘 함량별 무발효물의 이화학적 성분 변화

3) 무 발효 가공조건 최적화

가) 무의 전처리조건 설정

무발효물의 주원료인 무는 대량생산과 균질화의 용이성을 강화하기 위해 같은 무 형태로 사용하고 있으며, 같은 무의 전처리(냉동여부) 형태에 따라 발효도에 차이를 비교하여, 향후 무발효물의 주원료 형태를 결정하고자 하였다. 무를 사용직전에 같은 생무와 -20℃에서 냉동한 냉동무를 사용하여 각 무발효물을 제조하고, 발효기간별 이화학 및 관능적 특성을 비교하였다.

생무와 냉동무 형태에 따른 이화학 분석 결과 산도와 알코올의 경우 두 전처리에 따른 차이가 없었으며, 환원당의 경우 수치상으로 차이가 있으나 전체적인 양상은 유사한 것으로 나타났다.

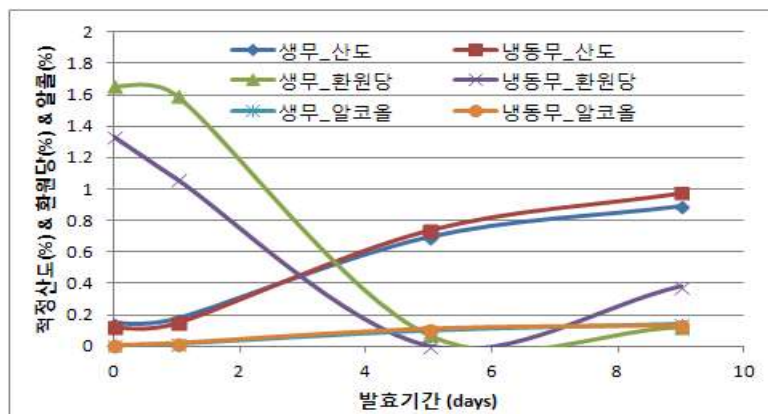


그림 34. 무의 전처리(생무와 냉동무) 형태에 따른 무발효물의 이화학적 성분 변화

무발효물의 전체기호도에 대한 주효과도를 분석 한 결과 생무와 냉동무 형태에 따른 관능적 품질 차이는 없는 것으로 나타났다(그림 34-35). 또한 무발효의 발효기간과 탄산미, 동치미향이 전체기호도에 양의 상관관계를 가지는 항목으로는 나타났다.

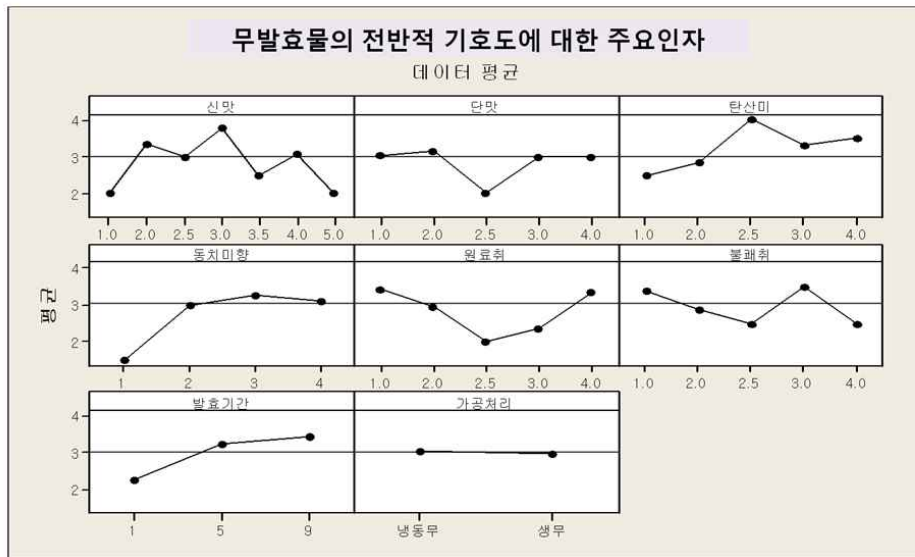


그림 35. 무발효물의 전반적 기호도에 대한 주요인자

나) 발효온도와 발효기간별 무의 발효 양상

본 연구에서 분리된 starter 유산균은 *L. parabuchneri*로 최적배양온도는 30°C이므로, 30°C 전후의 온도에서 무발효물의 발효기간별 발효 양상을 조사하여 적절한 발효온도를 설정하고자 하였다.

발효온도가 높을수록 산 생성은 빠르나, 유산균 생육도는 비교적 낮은 25°C에서 가장 양호하였다(그림 36). 발효후기(14일차, 약 2주차)에 발효온도별 산도의 차이는 없으나, 향미적 차이를 보였다.

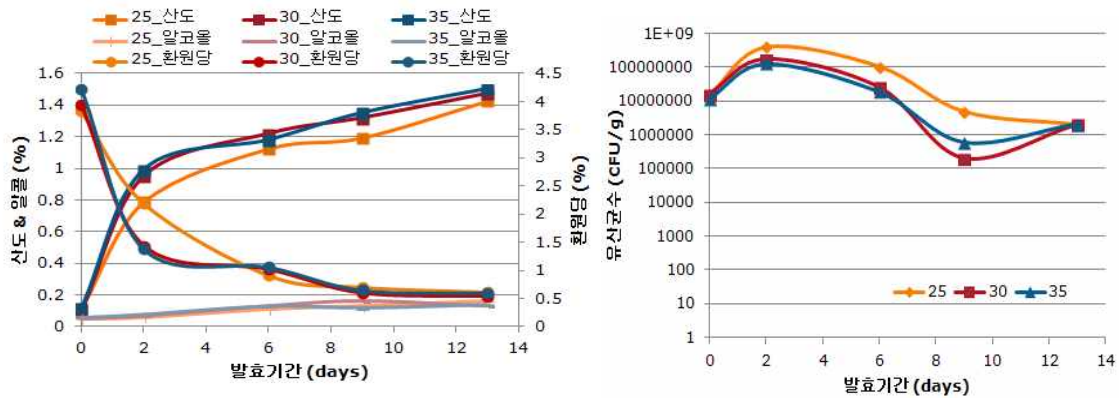


그림 36. 발효온도/발효기간별 무의 발효 양상

발효 기간별 관능특성은 25°C에서 11일간 발효 하였을 시 기호도가 가장 좋게 평가 되었으나 30°C와 유의성 차이가 없었으며 발효 4일 차에 30°C에서 가장 높은 기호도를 보였다. (표 26, 그림37)

이화학 분석 결과와 관능 결과를 비교한 결과 무발효물의 발효기간은 4일~11일 이내, 발효온도는 25~30°C 범위가 적절하다고 사료된다.

표 26. 온도 별 발효기간에 따른 무발효물의 관능 결과

발효 기간 (day)	발효온도(°C)		
	25	30	35
1	2.84 ^c	2.76 ^c	2.94 ^c
4	3.45 ^b	3.75 ^{ab}	3.31 ^b
11	4.01 ^a	3.98 ^a	3.42 ^b

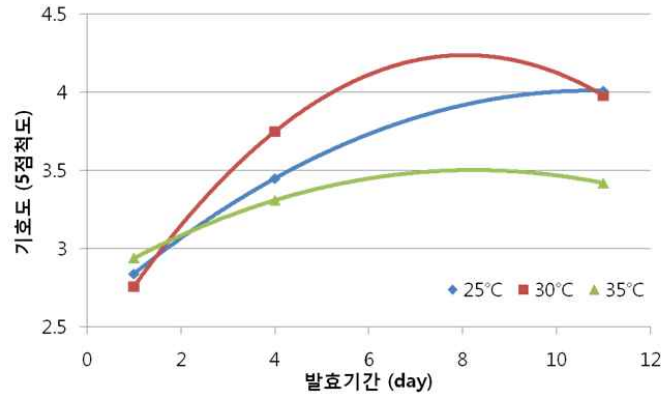


그림 37. 온도 별 발효기간에 따른 무발효물의 관능 결과

다. Scale-up 에 따른 무발효물의 발효 양상 및 품질 차이 확인

앞서 나온 발효 조건, 즉 무 70%, 소금 2%, 마늘 3%, 유산균 2%로 배합하여 30°C로 9일간 발효하여, 품질의 변화와 미생물의 변화를 확인하였다(그림 38).

무 발효물은 초기 24시간 이내에 산도 0.8%이상, pH 4.0이하, 환원당 1% 이하로 변화하며 숙성도(AN)이 40 mg%내외, 미생물의 경우, 유산균 8.0 log CFU/ml이상, 효모는 2.0 log CFU/ml이하로 나왔다. 이후 5일 간의 숙성 뒤에는 산도는 1.0%이상, pH 4.0이하, 환원당 0.5% 이하로 느리게 변화하며 숙성도(AN)이 45 mg%정도, 유산균은 7.0 log CFU/ml이상, 효모와 일반세균은 2.0 log CFU/ml이하로 나왔으며, 5일이상 숙성시에도 큰 변화가 없는 것으로 확인되었다.

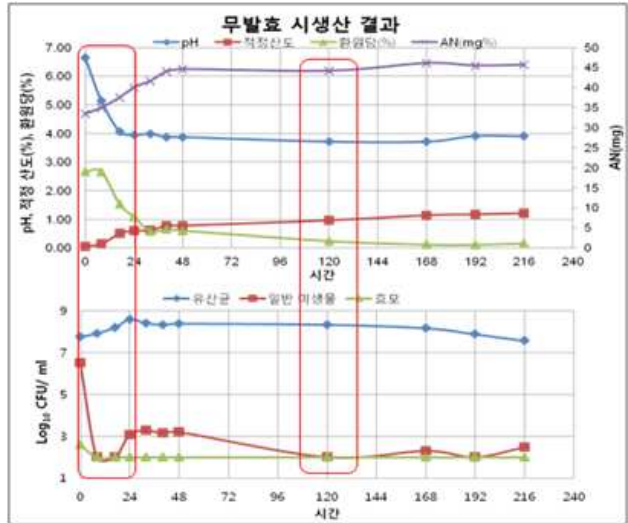


그림 38. 무발효물 Scale-up에 따른 이화학 성분 및 미생물의 변화 양상

1) 무발효물의 장기간 보관에 따른 품질 변화 확인

시생산에 따른 무발효물의 냉장보관시 품질의 변화를 4개월간 확인하였다

확인 결과 산도(1.2%), pH(3.8), 환원당(0.5%), 숙성도(45 mg%), 알코올(0.2%) 수준에서 4개월간 큰 변화가 없는 것으로 나타났다.(그림 39)

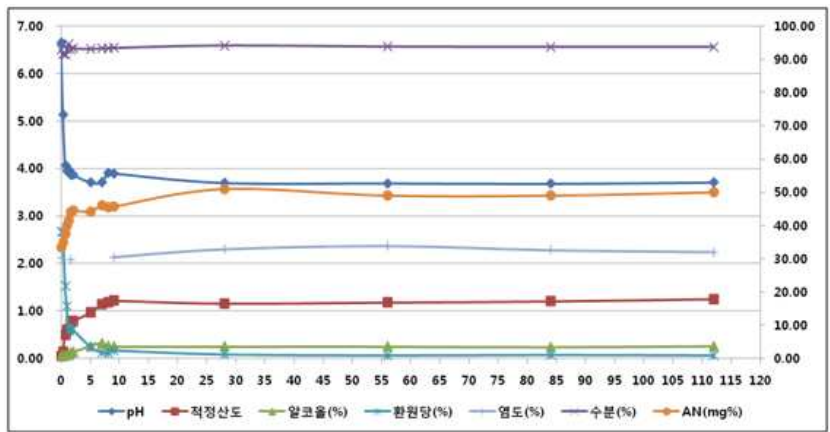


그림 39. 무발효물의 장기보관시 품질의 변화 양상

2) 한식음료의 적용가능 풍미를 위한 배합비 수정

무발효물은 한식음료에서 동치미풍으로 진행되어 시원함과 새콤함을 주는 요소로서 개발이 진행이 되었다. 다만, 현미발효물을 베이스로 진행되는 한식음료에서 prototype 설정을 위해 사전테스트시 마늘 3%의 무발효물을 사용하여 한식음료로서 그 향미에 대한 사전조사를 실시한 결과, 마늘 3%의 무발효물에서 동치미 김치 풍미가 강하게 느껴져 음료로서 마시기에는 거부감이 있다는 다수의 의견이 나타났으며, 마늘을 단계적으로 1%까지 낮추어 음료로서 제시를 했음에도 불구하고, 동치미 김치 풍미에 대한 인지가 여전히 존재하여, 마늘의 첨가는 부적합한 것으로 나타났다.

이에 따라 마늘을 0%로 하여 무발효물을 제조하였을 때 양상을 확인하고자 마늘을 첨가하지 않고

무발효물을 제조하여 마늘 3%무발효물과 마늘 0%의 무발효물의 관능적 향미특성을 조사해 본 결과 두 무발효물간의 전반적기호도는 차이가 없었으나, 과실의 새콤한 향, 향기호도 간에는 마늘 무첨가한 것이 유의적 차이는 아니나 좀 더 좋게 평가 되었다. 마늘 0% 첨가구는 전반적 기호도에는 차이가 없으면서, 과실의 새콤한 향으로 향기 기호도를 상승시키므로 한식음료에 좀 더 적합할 것으로 사료 되었다. (그림 40)

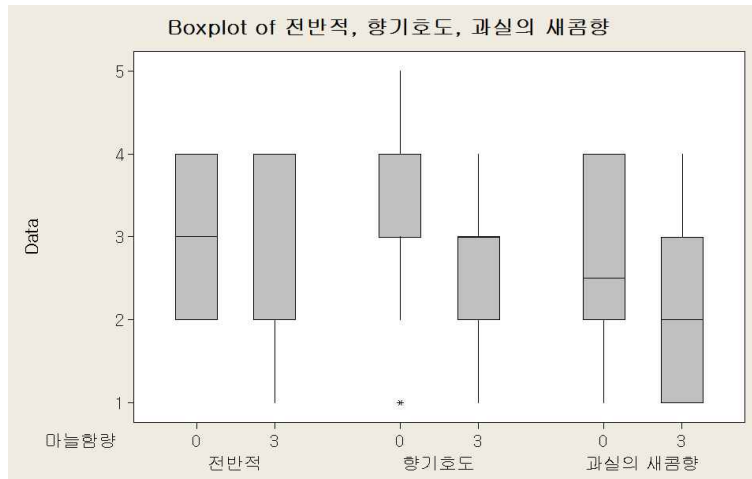


그림 40. 마늘함량별(0%, 3%) 전반적 기호도 및 향기호도 측정 결과

3) 무발효물 type 별 유리당, 유기산, 아미노산, 미네랄 등 성분 확인

무발효물은 마늘을 사용하는 무발효물, 마늘을 사용하지 않는 무 발효물, 두가지 type으로 유리당, 유기산, 아미노산, 미네랄 등 성분에 대한 분석을 실시하였다(표 27)

이 결과를 바탕으로 칼로리는 마늘 3% 무발효물은 총 11 kcal, 마늘 0% 무발효물은 8 kcal의 열량으로 계산되었다.

표 27. 무발효물별 유리당, 유기산, 아미노산, 미네랄 분석 결과

분석항목		무 발효물(마늘 3%)	무 발효물(마늘 0%)
유리당 (mg/kg)	fructose	268.69	224.55
	glucose	1183.07	1614.13
	sucrose	0.00	0.00
	lactose	0.00	0.00
	maltose	0.00	0.00
	합계	1451.76	1838.68
유기산 (mg/kg)	Citric acid	0.00	0.00
	Tartaric acid	0.00	0.00
	Malic acid	0.00	0.00
	Succinic acid	0.00	0.00
	Lactic acid	6370.81	6818.81
	Acetic acid	3043.86	3018.71
	Levulinic acid	0.00	0.00
	Pyroglutamic acid	324.69	337.31
합계	9739.36	10174.83	
유리 아미노산(%)	ASP	0.01	0.00
	THR	0.04	0.05
	SER	0.01	0.01
	GLU	0.01	0.02
	PRO	0.00	0.00
	GLY	0.01	0.00

	ALA	0.01	0.01
	CYS	0.00	0.00
	VAL	0.02	0.02
	MET	0.00	0.00
	ILE	0.00	0.00
	LEU	0.01	0.00
	TYR	0.00	0.00
	PHE	0.00	0.00
	HIS	0.04	0.06
	LYS	0.00	0.00
	NH3	0.06	0.06
	ARG	0.01	0.00
	합계	0.18	0.19
총 아미노산(%)	ASP	0.04	0.03
	THR	0.01	0.01
	SER	0.01	0.01
	GLU	0.13	0.11
	PRO	0.02	0.02
	GLY	0.01	0.01
	ALA	0.02	0.02
	CYS	0.00	0.00
	VAL	0.03	0.02
	MET	0.00	0.00
	ILE	0.01	0.00
	LEU	0.01	0.01
	TYR	0.01	0.00
	PHE	0.01	0.00
	HIS	0.05	0.05
	LYS	0.01	0.01
	NH3	0.07	0.06
ARG	0.00	0.00	
합계	0.38	0.29	
기타 분석	총당(%)	1.72	0.54
	조지방(%)	0.04	0.20
	회분(%)	2.34	2.02
	식이섬유(%)	1.05	1.03
	Ca(mg/kg)	225.76	158.77
	Fe(mg/kg)	7.77	6.34
	Na(mg/kg)	6570.65	3902.77
	K(mg/kg)	951.09	523.08
	P(mg/kg)	115.6	68.06
칼로리(kcal/100g)	11	8	

라. 무발효물 생산 공정 및 제품 규격

앞서 확립된 조건으로 무발효물 생산공정과 각 공정의 품질규격을 설정하여 무발효물 생산 시 일정한 품질을 유지할 수 있도록 하였다.(그림 41)

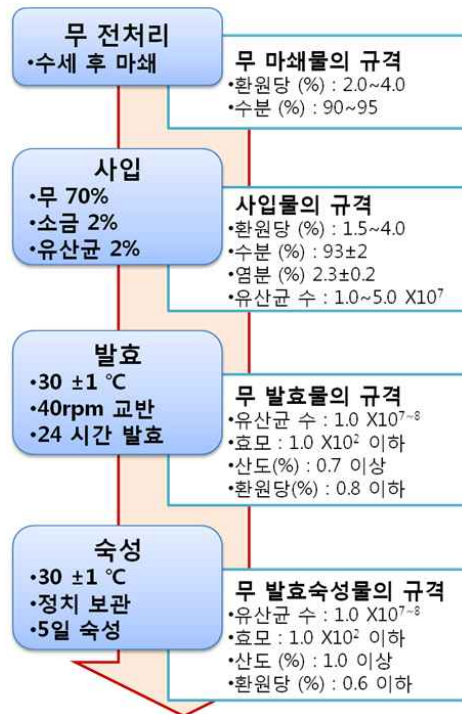


그림 41. 무발효물 생산 공정 및 품질 규격

마. 무발효물의 향미성분 정량분석

1) 휘발성 향기성분 분석을 위한 전처리법 setting 및 분석(마늘함량별 무발효물 이용)

가) Solid-phase microextraction (SPME, 고체상미세추출법)법을 이용한 마늘 함량별 무 발효물의 휘발성 향미성분 추출법

마늘 함량별 무 발효물의 휘발성 향미성분을 흡착시키기 위해 저분자, 극성 물질 분석에 주로 쓰이는 Carboxen/polymethylsiloxane (Carboxen-PDMS 75 μm) fiber (Supelco, Bellefonte, PA, USA)를 사용하였다. 10 mL vial에 무 발효물 6g을 첨가한 뒤 PTFE/Red Rubber septum (Supelco, Bellefonte, PA, USA)으로 봉하였다. 이를 60°C에서 300rpm으로 stirring 하며 60분 동안 평형상태를 유지시킨 다음 SPME fiber를 주입하고 3 mm를 headspace에 노출시켜 20분 동안 휘발성 향미성분을 흡착하였다. 휘발성 향미성분의 탈착은 GC-MS 주입구 (250°C)에서 5분간 수행하였다.

나) GC-MS를 이용한 마늘 첨가 무 발효물의 휘발성 향미성분 분석

SPME법을 통하여 추출한 휘발성 향미성분은 6890N gas chromatograph에 연결된 5975A mass selective detector (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA)로 분석하였으며, column은 DB-5MS (30m length x 0.25mm i.d. x 0.25μm film thickness, J&W Scientific, Folsom, CA, USA)를 사용하였다. Oven의 온도는 40°C에서 6분간 유지시킨 후 200°C까지 분당 5°C씩 올려 200°C에서 5분간 유지되도록 설정하였다. Injector와 ion source의 온도는 모두 250°C이었으며, mass scan range는 35~550 a.m.u., mass spectra는 electron ionization (EI) 방식으로 70 eV에서 얻어졌다. 운반 기체로는 Helium을 이용하였으며 0.8 mL/min로 유속이 유지되도록 하였고, 주입 방식은 splitless mode를 사용하였다. SPME fiber에 흡착된 휘발성 향미성분들은

injector 부분의 column 일부를 액체 질소에 담그는 방식인 cryo-focusing법을 적용하여 250°C 에서 5분간 탈착시켰다.

SPME법으로 추출한 각 휘발성 성분의 동정은 mass spectral database (Wiley 7nL.) 및 manual interpretation에 의해 비교 분석되었다.

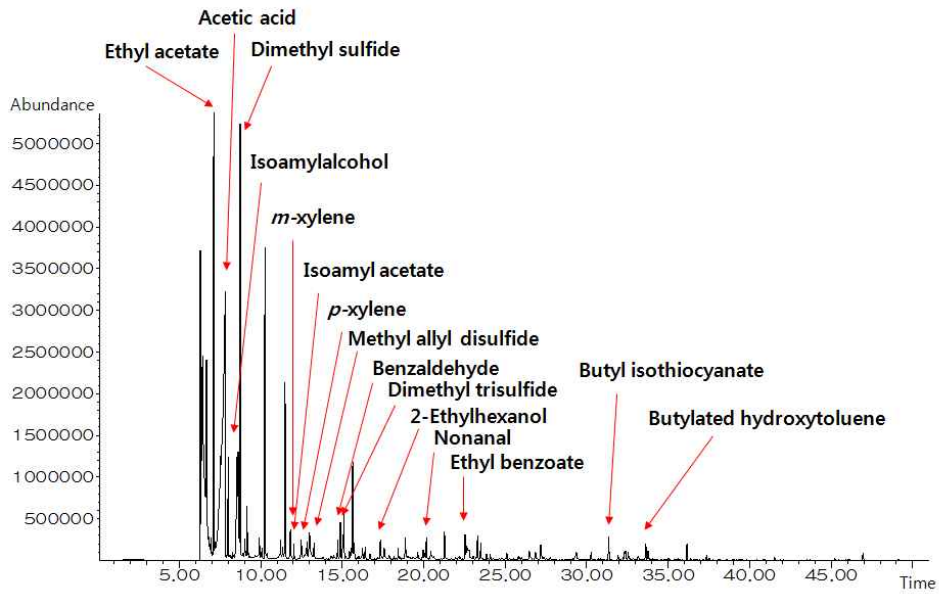


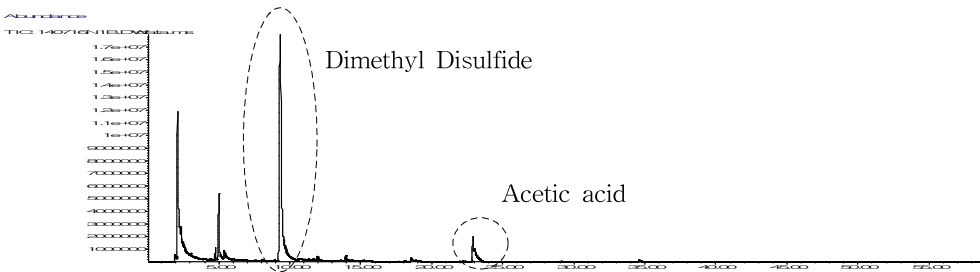
그림 42. 마늘 첨가 무발효물의 GC-MS total ion chromatograms

다) 마늘 무침가 무발효물 GC-MS 분석 결과

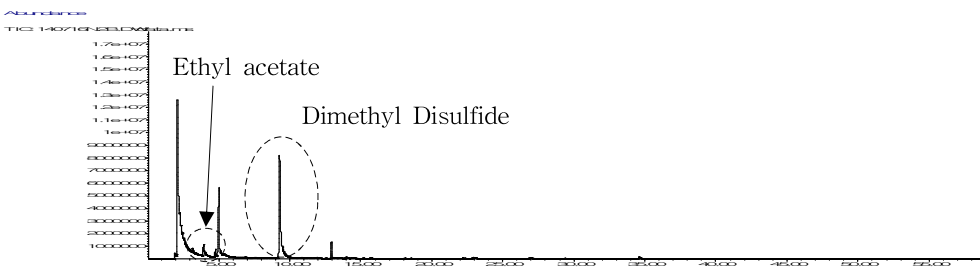
그림 43을 보면 비가열 처리한 무를 발효한 대조구, 비가열 처리 무의 0일 짜의 무발효물, 온도 80℃로 가열처리한 무를 발효한 대조구와 가열처리 무의 0일짜 발효된 무발효물의 시료 들에서는 다른 시료들에 비해 acetic acid의 peak (28.05분)이 아주 작게 보였다. 또한 가열처리 무의 0일짜 발효된 무발효물에서만 dimethyl disulfide의 peak (9.36분)이 뚜렷이 보이지 않았다. Ethyl acetate의 peak (3.93분)은 비가열 처리된 무의 발효물과 온도 80℃로 가열처리한 무의 발효물 두 시료의 GC-MS total ion chromatogram에서, 발효가 오래될수록 그 함량이 증가 하였다.

무발효물 시료별 GC-MS total ion chromatogram은 그림 43과 같다.

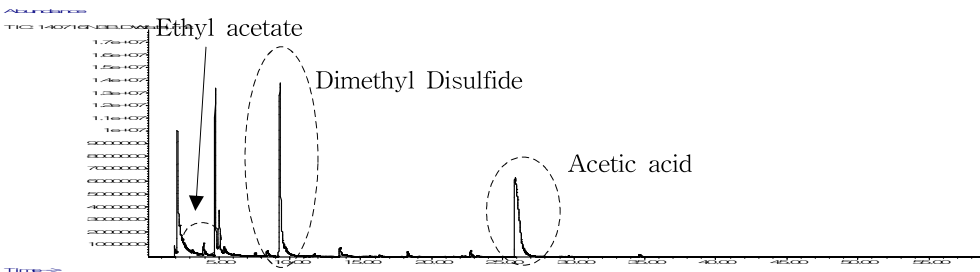
(a) 비가열 처리 무발효물 대조구



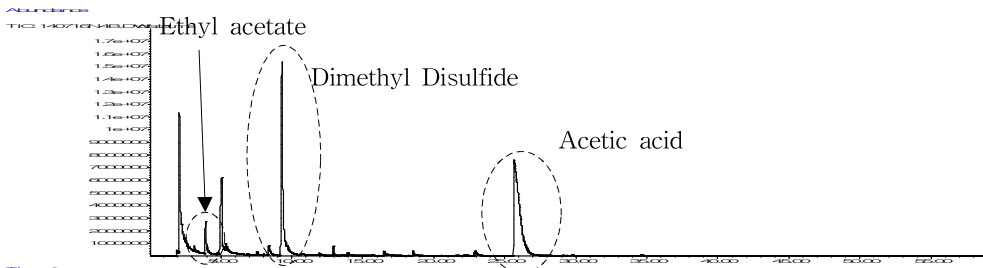
(b) 비가열 처리 발효 0일 짜 무발효물



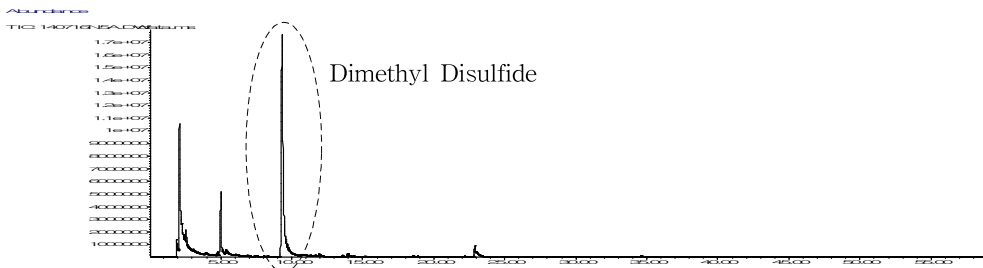
(c) 비가열 처리 발효 3일 짜 무발효물



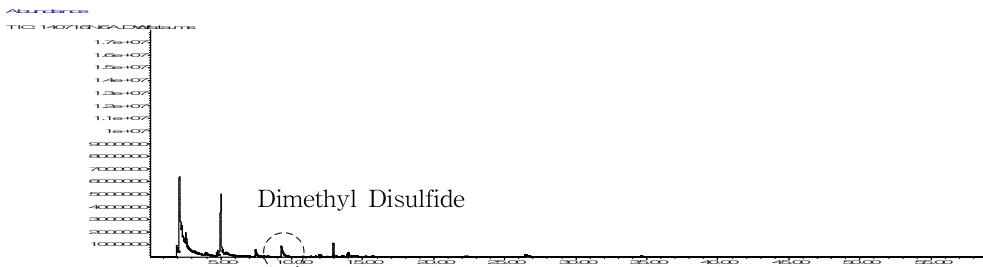
(d) 비가열 처리 발효 7일 째 무발효물



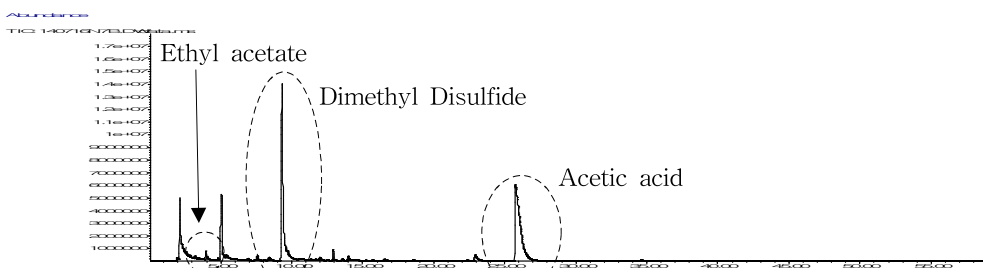
(e) 온도 80°C 무발효물 대조구



(f) 온도 80°C에서 발효 0일 째 무발효물



(g) 온도 80°C에서 발효 3일 째 무발효물



(h) 온도 80°C에서 발효 7일 째 무발효물

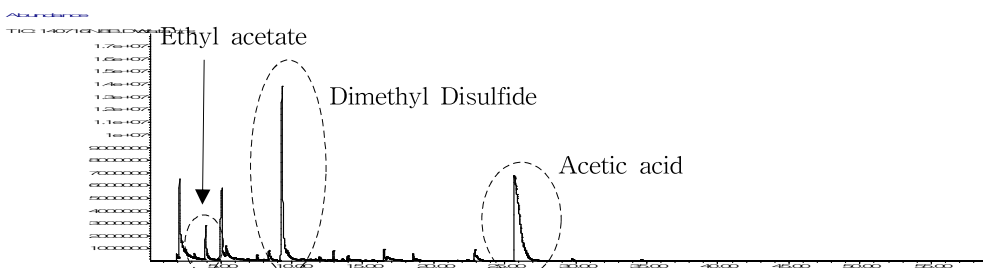


그림 43. 무발효물의 GC-MS total ion chromatogram

라) 무발효물 정성 및 정량

한식음료 5종 시료의 휘발성 성분들을 SPME 추출을 이용하여 GC-MS로 분석한 결과, 총 82가지의 휘발성 성분들이 동정되었다 (표 28). 비가열 처리한 무를 사용한 무발효물 대조구에서 46가지 휘발성 성분들이 동정되었고, acid류 (1), alcohol류 (15), aldehyde류 (4), benzen류 (5), carbonyl류 (2), ester류 (1), hydrocarbon류 (1), sulfur-containing compound류 (12), terpene류 (4), 기타 종류 5 종이 나타났다. 비가열 처리한 무를 사용한 발효 0일 쯤의 무발효물에서 42가지 휘발성 성분들이 동정되었고, acid류 (1), acetal류 (1), alcohol류 (13), benzen류 (6), ester류 (2), hydrocarbon류 1가지, sulfur-containing compound류 10가지, terpene류 3가지, 기타 종류 5가지가 나타났다. 비가열 처리한 무를 사용한 발효 3일 쯤의 무발효물에서 62가지 휘발성 성분들이 동정되었고, acid류 (1)가지, alcohol류 (12), aldehyde류 (6), benzen류 (7), carbonyl류 (2), ester류 (1), hydrocarbon류 (2), ketone류 (4), sulfur-containing compound류 (15), terpene류 (3)가지, 기타 종류 8 종이 나타났다. 비가열 처리한 무를 사용한 발효 7일 쯤의 무발효물에서 61가지 휘발성 성분들이 동정되었고, acid류 (1)가지, alcohol류 (11), aldehyde류 (7), benzen류 (6), carbonyl류 (2), ester류 (3), hydrocarbon류 (2), ketone류 (4), sulfur-containing compound류 (15), terpene류 (1), 기타 종류 8 종이 나타났다. 가열처리한 무를 사용한 무발효물 대조구에서는 45가지 휘발성 성분들이 동정되었고, acid류 (1), alcohol류 (12), benzen류 (7), carbonyl류 (2), ester류 (2), hydrocarbon류 (1), ketone류 (1), sulfur-containing compound류 (12), terpene류 (4), 기타 종류 4 종이 나타났다. 가열처리한 무를 사용한 0일 쯤 발효된 무발효물에서 39가지 휘발성 성분들이 동정되었고, acid류 (1), alcohol류 (10), benzen류 (7), ester류 (2), hydrocarbon류 (1), sulfur-containing compound류 (9), terpene류 (2), 기타 종류 4 종이 나타났다. 가열처리한 무를 사용한 3일 쯤 발효된 무발효물에서 54가지 휘발성 성분들이 동정되었고, acid류 (1), alcohol류 (7), aldehyde류 (7), benzen류 (6), carbonyl류 (2), ester류 (2), hydrocarbon류 (3), ketone류 (3), sulfur-containing compound류 (13), terpene류 (1), 기타 종류 5 종이 나타났다. 가열처리한 무를 사용한 7일 쯤 발효된 무발효물에서 51가지의 휘발성 성분들이 동정되었고, acid류 (1), alcohol류 (7), aldehyde류 (5), benzen류 (5), carbonyl류 (2), ester류 (3), hydrocarbon류 (1), ketone류 (2), sulfur-containing compound류 (13), terpene류 (1), 기타 종류 7 종이 나타났다.

Xylene은 terpen류의 분해에 의해 생성되며, 과일과 야채의 주요 성분이다 (Mader, 1964; Kuhn and Winterstein, 1932). 무발효물 시료에서 xylene isomer가 공통적으로 검출되었으며, benzene류는 자연적으로 형성될 수 있으나 대부분 식품에서 불쾌치를 나타내기 때문에 긍정적이지 않은 향미를 줄 것으로 사료된다.

Sulfide류는 cystein이나 methionin과 같은 황 함유 아미노산이 분해되거나, Maillard 반응 시 황 함유 아미노산이 이용될 경우 생성된다고 알려져 있다 (Jarunrattanasri, 2008). Cooked onion, garlic, vegetable 향을 갖고 있는데 특히, methione이 분해되어 dimethyl disulfide와 dimethyl trisulfide가 같이 생성될 수 있다 (Carunchia, 2005; Bendall, 2011)). Rouseff 등 (2008)은 구아바 잎에서 dimethyl disulfide가 식물체의 방어 기전에서 생성되어, 병충해에 대해 높은 향균 작용을 가진다고 보고하였다.

표 28.. 무발효물 휘발성 향미성분

RT (min)	Compounds	Odor Descriptions	Aroma threshold value (in water)
2.101	hexane		
2.266	methanethiol	odor of "rotting" cabbage; cheesy, vegetative, meaty & coffee taste	0.02 ppb
2.326	2,2-diethoxy-propane		
2.341	acetaldehyde	Pungent, breathtaking; in dilution a nutty alcoholic note; enhances citrus	15 ppb
2.461	carbon disulfide		
2.57	methyl sulfide	Pungent, cabbage, cooked vegetable odor; corn-like on dilution	0.3-1 ppb
2.813	oxetane		
3.016	acetone	Characteristic solvent odor	450,000 ppb
3.027	isobutyraldehyde	Pungent, malt, green sharp, pungent odor	0.4-43 ppb
3.162	methyl acetate	Sweet, volatile ethereal-fruity odor; similar to ethyl acetate	
3.732	butanal	In high dilution, cocoa, fruity, malt-like green odor & taste	9 ppb
3.93	ethyl acetate	Ethereal, sharp, wine-brandy like odor	5 ppb
4.376	2-methylbutyraldehyde	Strong, cocoa-like, malty, fermented odor, cocoa, green fruity on dilution	1 ppb
4.766	dichloromethane		
5.036	ethanol	Sweet, ethereal (alcoholic) odor; primarily used as a solvent	100,000 ppb
5.385	allyl methyl sulfide	Sulfurous, Garlic, onion notes	
6.022	diacetyl	Strong, buttery odor and taste on dilution	2.3 ppb
6.018	pentanal	Strong, acrid, pungent odor; chocolate & nut-like below 10ppm	12-42 ppb
7.334	(-)- α -pinene	Resinous, pine odor; turpentine taste	6 ppb
7.379	1-penten-3-one	Strong, penetrating pungent mustard-radish (alliaceous-like) odor/taste	1 ppb
7.443	chloroform		
7.559	1-propanethiol	Strong, sulfuraceous, onion, meaty, eggy, cabbage-like odor and taste	0.06 ppb
7.57	2,5-dihydroxy-1,4-dithiane	Sulfurous, grilled meat, brothy, eggy, toasted bread, tomato	
8.013	isobutenal		
8.005	toluene	paint	
8.02	2-butenal	Sharp, warm spicy odor	
8.286	1-propanol	Alcoholic, fermented sweet odor; bland fermented, fusel fruity flavor	9000 ppb
8.391	methyl thioacetate	1 ppm-cabbage vegetable; 0.1 ppm-popcorn-cereal taste; cheese	
8.901	camphene	Oily, weat camphoraceous odor	8.2-41 ppb
9.355	dimethyl disulfide	Strong onion, cabbage-like odor	0.16-1.2 ppb
9.681	hexanal	Strong, penetrating, fatty-green, grassy unripe fruit odor	4.5 ppb

10.798	isobutyl alcohol	Breathtaking, sweet, sweaty-chemical; fermented, whiskey-like in dilution	7000 ppb
11.312	ethylbenzene		
11.641	p-xylene		
11.938	m-xylene		
12.331	allyl sulfide	Sweet, pungent, garlic-horseradish like	32.5 ppb
12.462	o-xylene		
12.95	1-butanol	Breathtaking, winey, fusel oil-like	500 ppb
13.568	1-penten-3-ol	pungent, gassy, alliaceous-wasabi; green vegetable, tomato taste	400 ppb
15.176	1,8-cineol	Strong, camphoraceous, cool, fresh odor	12 ppb
15.675	isoamyl alcohol	Breathtaking, alcoholic odor; in dilution a winey-brandy taste	250 ppb
16.114	2-butenol	Sweet, gassy, ethereal, slightly fruity	
16.249	methyl propyl disulfide	Odor and taste reminiscent of onion/garlic, radish & vegetative, Alliaceous, Onion, Sweet	
16.503	1,2-diacetylhydrazine		
17.478	isobutenylcarbinol	Sweet, fresh, green, herbal, fruity	
17.684	1-pentanol	Alcoholic-breathtaking, fusel-like odor with a burning taste	4000 ppb
18.104	methyl isothiocyanate	Pungent, mustard, horseradish-like	12.6 ppm
18.209	methallyl cyanide		
18.543	methyl allyl disulfide ¹	Powerful, sulfurous odor; cooked garlic-onion notes	
18.85	acetoin	Creamy-buttery, yogurt-like odor and flavor	800 ppb
19.041	octanal	Fatty-fruity odor; sweet, citrus-orange-fatty taste	0.7 ppb
19.637	vinyl amyl ketone	powerful, harsh metallic mushroom like odor	0.005 ppb
20.803	cis-2-pentenol	Ethereal, green, fruity odor with citrus connotation	
20.537	trans-2-heptenal	Intense green, fatty, sweet, fresh fruity apple skin nuances at 4 ppm	13 ppb
20.702	ethyl methanesulfinate		
21.542	5-cyano-1-pentene		
21.688	ethyl lactate	Ethereal, rum-buttery odor; milk-like buttery taste on dilution	14000 ppb
22.299	1-hexanol	Chemical, winey, slight fatty-fruity odor	2500 ppb
22.895	dimethyl trisulfide	Strong garlic-onion odor; savory, roasted notes	
23.577	2-nonanone	Fruity, fatty-cheese-herbal-coconut odor; fruity dairy-cheese taste	5-200 ppb
23.607	cis-3-hexen-1-ol	Strong, fresh, green, grassy odor	70 ppb
25.264	2-octenal	Fatty, green vegetable odor; fatty-green vegetable, melon, citrus taste	3 ppb
28.046	acetic acid	Pungent, sour, vinegar odor with	22000 ppb

		sour, acid taste	
27.896	trans-2,4-heptadienal	Fatty, green, citrus with an oil, greasy note, somewhat cinnamon	
28.664	camphor	Fresh, minty-cooling characteristic camphor odor; bitter taste	1-1.29 ppm
29.088	unknown1		
29.365	unknown4		
30.932	1-octanol	Orange-rose, waxy, sweet odor; waxy, green, citrus taste	110 ppb
31.742	unknown2		
32.195	unknown3		
32.319	2-dodecanone	Fruity, citrus, floral odor	
33.05	butyrolactone	Weak, slightly caramellic, nutty, buttery odor	
36.735	2-methylthiolane	Sulfurous, allium-like, savory on dilution	

* RT: Retention time

* Odor description: Flavor-base 2010 Professional, Leffingwell & Associates

* Aroma threshold value: odor threshold in water

표 29. 무발효물 휘발성 향미성분 정량

	비가열 처리 무발효물				80℃에서 발효된 무발효물			
	대조구	0일	3일	7일	대조구	0일	3일	7일
Acids								
Acetic acid	0.0001	0.0067	0.3997	0.4697	0.0007	0.0574	0.4519	0.4860
Acetals								
2,2-Diethoxy-propane	-	0.0038	-	-	-	-	-	-
Alcohols								
1-Butanol	0.0003	0.0369	0.0088	0.0077	0.0002	0.0580	0.0116	0.0094
Isoamyl alcohol	0.0008	0.0029	0.0009	0.0012	0.0013	0.0051	0.0010	0.0012
2-Butenol	0.0001	0.0003	0.0001	0.0001	0.0003	0.0007	0.0001	0.0001
1-Penten-3-ol	0.0015	0.0017	0.0011	0.0009	0.0023	0.0051	0.0022	0.0019
Ethanol	0.0892	0.1859	0.0821	0.1018	0.1145	0.3395	0.0982	0.1192
Isobutyl alcohol	-	0.0012	0.0001	0.0005	0.0005	0.0029	0.0003	0.0004
1-Hexanol	0.0003	0.0010	0.0008	0.0009	0.0011	0.0055	0.0017	0.0020
cis-3-Hexen-1-ol	-	0.0003	-	-	-	0.0005	-	0.0004
Menthanethiol	0.0013	0.0044	0.0013	0.0005	0.0031	0.0139	0.0005	0.0005
Isobutenylcarbinol	-	-	0.0001	-	-	-	-	-
1-Pentanol	0.0003	0.0006	0.0003	0.0003	0.0009	0.0030	0.0008	0.0007
cis-2-Pentenol 1	0.0001	0.0001	-	-	0.0002	0.0004	-	-
cis-2-pentenol 2	-	-	-	-	0.0003	0.0007	0.0003	-
1-Propanethiol	0.0007	0.0011	0.0027	0.0024	-	-	-	-
1-Propanol	0.0003	0.0010	-	-	0.0009	0.0037	-	-
1-Octanol	-	-	0.0001	0.0001	-	0.0002	0.0001	0.0001
Aldehydes								
Acetaldehyde	0.0045	-	-	-	-	-	-	-
Butanal	-	-	-	0.0003	-	-	0.0004	-

2-Butenal	0.0018	-	-	-	-	-	0.0009	0.0010
trans-2,4-Heptadienal	-	-	0.0001	0.0001	-	-	0.0002	0.0001
trans-2-Heptenal	-	-	0.0001	0.0002	-	-	0.0003	0.0003
Hexanal 1	-	-	0.0017	0.0010	-	-	0.3019	0.0022
Hexanal 2	-	-	0.0001	-	-	-	0.0001	-
Isobutenal	-	-	-	0.0010	-	-	-	-
Isobutyraldehyde	0.0028	-	-	-	-	-	-	-
2-Methylbutyraldehyde	0.0006	-	-	-	-	-	-	-
Pentanal	-	-	0.0008	0.0008	-	-	0.0010	0.0012
Octanal	-	-	-	0.0001	-	-	-	-
2-Octenal	-	-	0.0001	0.0001	-	-	-	-
Benzene&Benzene derivatives								
Toluene	-	0.0009	0.0009	-	0.0005	0.0019	-	-
Ethylbenzene	0.0013	0.0006	0.0008	0.0005	0.0008	0.0026	0.0008	0.0009
p-Xylene 1	0.0016	0.0006	0.0010	0.0007	0.0011	0.0041	0.0011	0.0011
m-Xylene 1	0.0076	0.0037	0.0043	0.0025	0.0055	0.0190	0.0050	0.0044
o-Xylene	-	-	0.0007	0.0002	0.0010	0.0030	0.0010	0.0008
p-Xylene 2	0.0073	0.0034	0.0046	0.0025	0.0053	0.0216	0.0051	0.0049
m-Xylene 2	0.0035	0.0012	0.0017	0.0007	0.0027	0.0127	0.0021	-
Carbonyls								
Acetoin	0.0007	-	-	-	0.0007	-	-	-
Diacetyl	0.0010	-	-	-	0.0012	-	-	-
1,2-Diacetylhydrazine 1	-	-	0.0011	0.0036	-	-	0.0017	0.0086
1,2-Diacetylhydrazine 2	-	-	0.0009	0.0028	-	-	0.0014	0.0074
Esters								
Methyl acetate	-	0.0063	0.0017	0.0028	0.0009	0.0054	0.0018	0.0031

Ethyl acetate	0.0005	0.0374	0.0140	0.0332	0.0044	0.0173	0.0117	0.0414
Ethyl lactate	-	-	-	0.0003	-	-	-	0.0003
Hydrocarbons								
2-Dodecanone	-	-	-	-	-	-	0.0001	-
Hexane	0.1236	0.2723	0.0732	0.0722	0.1169	0.2061	0.0471	0.0413
2-Nonanone	-	-	0.00005	0.00005	-	-	0.0005	-
Ketones								
Acetone	-	-	0.0003	0.0002	0.0010	-	0.0004	-
Butyrolactone	-	-	0.0001	0.0001	-	-	0.0001	0.0002
1-Penten-3-one	-	-	0.0004	0.0002	-	-	-	-
Vinyl amyl ketone	-	-	0.0001	0.0001	-	-	0.0001	0.0001
Sulfur-containing compounds								
Allyl methyl sulfide	0.0165	0.0054	0.0082	0.0071	0.0120	0.0149	0.0045	0.0120
Allyl sulfide	-	-	0.0001	0.0001	-	-	-	-
Carbon disulfide	0.0025	0.0039	0.0017	0.0013	0.0043	0.0100	0.0014	0.0013
2,5-Dihydroxy-1,4-dithiane	-	-	-	-	-	-	0.0059	0.0059
Dimethyl disulfide 1	0.6254	0.3839	0.1893	0.2433	0.6649	0.0840	0.0001	0.1884
Dimethyl disulfide 2	0.0097	0.0010	0.0005	0.0004	0.0021	-	0.0009	-
Dimethyl sulfide 1	0.0021	0.0033	0.0017	0.0014	0.0093	0.0306	0.0016	0.0017
Dimethyl sulfide 2	0.0001	0.0002	0.0001	0.0001	0.0003	0.0008	0.0001	0.0001
Dimethyl trisulfide 1	0.0722	0.0081	0.0107	0.0101	0.0309	0.0007	0.0181	0.0208
Dimethyl trisulfide 2	-	-	-	-	0.0002	0.0010	-	-
Ethyl methanesulfinate	-	-	0.0001	0.0004	-	-	-	0.0001
Methyl allyl disulfide 1	0.0037	0.0008	0.0035	0.0034	0.0017	0.0002	0.0013	0.0039
Methyl allyl disulfide 2	0.0005	0.0002	0.0019	0.0013	0.0002	-	0.0005	0.0017
Methyl isothiocyanate	0.0007	0.0012	0.0001	0.0001	0.0003	0.0008	0.0001	-

Methyl propyl disulfide	0.0002	-	0.0001	0.0001	0.0001	-	0.0001	0.0001
Methyl thioacetate	-	-	0.0090	0.0132	-	-	0.0065	0.0163
2-Methylthiolane	0.0001	-	0.0001	0.0001	-	-	-	0.0001
Terpenes&Terpenoids								
Camphene	0.0015	0.0003	0.0003	-	0.0005	0.0004	-	-
Camphor	0.0001	0.0001	0.0001	-	0.0001	-	-	-
1,8-Cineol	0.0010	0.0009	0.0003	0.0002	0.0006	0.0014	0.0003	0.0001
(-)- α -Pinene	0.0002	-	-	-	0.0001	-	-	-
Miscellaneous								
Oxetane	-	-	0.0006	0.0006	-	-	0.0013	0.0007
Dichloromethane	0.0107	0.0134	0.1608	0.0012	0.0033	0.0168	0.0016	0.0006
Chloroform	0.0001	0.0003	-	-	0.0002	0.0458	-	-
Methallyl cyanide	-	-	0.0001	0.0002	-	-	0.0002	0.0003
5-Cyano-1-pentene	-	-	0.0011	0.0002	-	-	0.0011	0.0002
Unknown 1	0.0005	0.0008	0.0009	0.0006	0.0003	0.0015	0.0007	0.0037
Unknown 2	0.0002	-	0.0001	0.00003	-	-	-	0.0002
Unknown 3	-	-	0.00003	0.0002	-	-	-	0.0003
Unknown 4	0.0001	0.0010	0.0014	0.0017	-	-	-	-

* 정량값: 각 성분 peak area/total peak area

제 2 절 현미발효물 및 무발효물을 활용한 한식음료 개발

1. 시판음료의 제품 정보 수집 및 관능적/이화학적 품질 분석

현재 음료시장의 규모는 2011년 출하액 기준 3조 9882억 이상으로 매우 크고 그 제품 또한 매우 다양한 종류가 있다. 그 중에서도 한식음료는 식이섬유가 풍부하여 장 건강에 유익한 제품으로 칼로리가 낮으며 구수하고, 새콤하며, 시원한 맛을 구현하여 식후 음료로 마시기 편한 음료이다. 따라서 개발하고자 하는 한식음료와 유사한 제품군의 제품을 구입하여 제품의 정보 수집 및 관능적 풍미를 확인하고 이화학적 품질을 분석하여 시중제품의 문제점을 파악하고 소비자의 니즈를 파악 및 적용하여 제품 개발 시에 활용하고자 하였다. 시중제품의 구입은 유통 채널별로 입점 되어 있는 제품이 다를 것으로 판단하여 각기 다른 유통 전문점에서 구입을 진행하였다. 홈플러스, 이마트, 백화점, 편의점에서 각각 구입을 진행하였다. 제품 구입 시에 한식음료 방향과 유사하게 칼로리가 낮고 식이섬유가 풍부한 제품을 위주로 구입을 진행 하였으며, 전통적으로 먹어온 음료로 구분되는 제품도 구입을 진행하였다.

시중제품의 표시사항 및 영양성분 분석 결과 칼로리는 30~180 kcal까지 다양하였으며, 식이섬유는 채소 농축액 및 폴리덱스트로스와 같은 정제된 식이섬유를 사용하였으며, 과당과 같은 정제당과 합성 착향료들을 주로 사용하는 것으로 나타났다(표 30). Brix는 당도에 따라 5~21%까지 다양하고, 수분은 80~96% 수준이며, 기호에 따라 조직감 형태를 달리하는 것으로 나타났다(표 31).

시중 제품의 관능적 특성을 분석하여 시판음료 맛 특징 및 기호도를 파악하고 이를 한식음료 개발 시에 적용하고자 하였다. 관능검사 시료는 많을수록 평가자의 피로도가 증가하여, 정확한 결과를 도출하기 어려운 점이 있어 한식음료와 가장 밀접한 전통음료 또는 식이섬유가 높고 저칼로리 음료이거나 형태가 다른 음료, 시중에 기능성음료로 판매율이 높고 맛의 차별점이 있는 음료 12종을 선정하였으며 동일한 인원을 대상으로 총 3회에 걸쳐 진행하였다.

한식음료는 식후에 소화가 잘되고 마시기 편한 음료로 개발되는 제품이므로, 시중제품도 식후에 제시하여 평가를 진행하도록 하였다. 관능검사 인원은 연구소 연구원 11명을 대상으로 진행하였다. 관능검사 항목은, 전반적 기호도, 맛 기호도, 향 기호도, 외관 기호도, 조직감 기호도, 단맛 강도, 신맛 강도, 구수한맛 강도, 텁텁한맛 강도, 청량감 강도를 평가하였으며 항목 설정 시 논문내용(기능성음료의 관능적 특성과 소비자 기호 유도인자)을 참고하여 설정하였다. 시중제품 관능평가 결과 외관 기호도, 향 기호도, 맛 기호도, 조직감 기호가 높을수록 전반적 기호가 높아졌으며, 단맛 강도, 청량감 강도, 구수한 강도가 전반적 기호도와 양의 상관관계로 나타났다(Fig31.). 시중제품은 단맛 강도가 높은 제품들이 대부분이나, 단맛이 강할수록 칼로리도 높은 경향을 나타내므로 평가순위에서 전통음료로 구수함, 청량감이 좋은 아침햇살과 식혜가 1순위로 평가된 것을 참고하여(표 32) 한식음료 개발 시에는 단맛을 낮추더라도 청량함, 구수함, 깔끔함에 집중하여 입안을 개운하

게 해주는, 기존 시장에는 없는 새로운 타입으로써, 식문화를 선도하는 제품으로 목표를 설정하였다.

표 30. 시중 제품의 제품 특징 분석 (표시사항 및 영양성분)

제품명	표시사항	영양성분
<p>100% 유기농 야채농장</p>  <p>(파스퇴르)</p>	<p>정제수, 유기농 당근농축액(당근즙95%, (독일산 47.5%, 터키산 47.5%),유기농설탕4%, 유기농 레몬농축액(레몬과즙1%)</p>	<p>1회제공량 180mL 열량110kcal, 탄수화물24g(7%) 단백질 2g(4%), 지방0, 콜레스테롤0 , 나트륨60mg(3%),칼슘 82mg(12%)</p>
 <p>캠벨 토마토 주스</p>	<p>정제수, 토마토농축페이스트(토마토 즙100%,미국산), 정제염(국산), 비타민C, 구연산</p>	<p>총량 2000ml, 1회제공량 200ml 1회제공량 기준(총 5회제공량) 열량 32kcal, 탄수화물 7g(2%, 식이섬유 3g(12%), 당류 4g, 단백질 1.5 g(3%), 지방 0.4g(1%), 포화지방0, 트랜스지방0,콜레스테롤0,나트륨 190mg(10%)</p>
 <p>웅진 아침햇살</p>	<p>쌀추출액(45%, 고형분9%이상, 국산), 현미추출액 33%(고형분0.2%이상), 볶은현미(국산1.4%, 미국산0.2%), 정제수, 백설탕, 식물성크림-더블유(물엿,식물성경화 유지, 카제인(우유),제이인산칼륨, 유화제),텍스트린, 유화제, 비타민C, 글리신,합성착향료(현미향),참마농축 액0.04%(고형분4%이상), 바이오더블유제이(자몽중자추출물, 글리세린,비타민C,녹차추출물)</p>	<p>1회제공량 180ml, 열량95kcal, 탄수화물20g(6%), 당류 11g, 단백질0g(0%),지방1.3g(9%), 포화지방 1.3g(9%), 트랜스지방0g,콜레스테롤0mg(0%),나트륨 35mg(2%)</p>
 <p>아임리얼 요구르트 (폴무원)</p>	<p>원유(국내산), 사과즙 10%(국내산), 배농축과즙, 망고퓨레(필리핀산 6%, 망고다이스 5%(필리핀산), 사과농축과즙3%(국산,고형분 50%), 오렌지농축과즙, 카스피해 유산균 배양액(0.01% 유산균)</p>	<p>총량 : 300ml , 1회제공량 200ml(총2회제공량) 열량 70kcal, 탄수화물12g(4%), 식이섬유 1g(4%), 당류10g, 단백질 2g(4%), 지방1.9g(4%), 포화지방 1.2g(8%), 트랜스지방0, 콜레스테롤 5mg(2%), 나트륨 30mg(2%), 비타민C 11mg(11%), 칼슘61mg (9%)</p>
 <p>미에로 화이바</p>	<p>폴리텍스트로스(식이섬유70%)3.551 %, 결정과당, 산도조절제, 합성착향료(오렌지향), 비타민C, DL-알라닌, 씨트러스추출물, 코치닐추출색소</p>	<p>1병 100ml, 1회제공량 100ml 열량 40kcal, 탄수화물 11g(3%), 식이섬유 2.5g(10%), 당류 8g, 단백질 0g(0%), 지방0(0%), 포화지방0, 트랜스지방0, 콜레스테롤0, 나트륨20mg(1%)</p>

(현대약품)		
 <p>V8(농심)</p>	<p>정제수, 토마토 주스 농축액, 당근추출물, 셀러리추출물, 근대추출물, 과슬리추출물, 양상추추출물, 물냉이추출물, 시금치추출물, 비타민C, 천연셀러리향, 정제염, 구연산</p>	<p>1회 제공량 1캔, 1회제공량160ml 열량 30kcal, 탄수화물 7g. 식이섬유 1g(4%), 지방0, 포화지방0, 콜레스테롤 0, 나트륨 290mg (12%)</p>
 <p>화이브 미니 (동아제약)</p>	<p>정제수, 백설탕, 폴리덱스트로스(식이섬유), 액상과당, 비타민C, 탄산가스, 합성착향료(트로피칼향, 패션후르츠향), 구연산, 구연산나트륨, L-글루타민산나트륨(향미증진제), 코치닐 추출색소</p>	<p>1병 100ml, 1회제공량 100ml 열량 55kcal, 탄수화물 15g(5%), 식이섬유 4g(16%), 당류10g, 단백질0g, 지방0g, 포화지방0, 트랜스지방0, 콜레스테롤0, 나트륨 10mg(1%), 비타민C300mg(300%)</p>
 <p>쁘띠젤 워터젤리 (CJ)</p>	<p>정제수, 사과농축액7%(국산), 사과퓨레7%(사과(국산),비타민씨), 말티톨, 백설탕, 폴리덱스트로스(식이섬유), 프락토올리고당, 혼합제제(카라기난, 젤란검, 구연산삼나트륨, 염화칼슘, 로커스트콩검, 잔탄검, 텍스트린), 산도조절제, 비타민씨, 합성착향료(사과향)</p>	<p>1회제공량 130ml 열량70kcal, 탄수화물 18g(5%, 당류 13g), 단백질0g, 지방0g, 포화지방0, 트랜스지방0mg, 콜레스테롤0, 나트륨20mg(1%), 식이섬유4g(16%), 비타민씨 100mg(100%)</p>
 <p>셰이킹 포테이토 (서울우유)</p>	<p>원유(국산)50%, 고구마페이스트(인도네시아)4.5%, 정제수, 정백당, 유크림, 농축우유단백질, 폴리덱스트로스(식이섬유) 0.7%, 코코넛크립파우더, 카라기난, 정제염 합성착향료(고구마향), 천연착향료(바닐라향)</p>	<p>총량 : 300ml, 1회 제공량 200ml 기준 (약 2회제공량) 열량 180kcal, 탄수화물 20g(6%) 식이섬유0.7g(3%), 당류 19g, 단백질9g(16%), 지방7g(14%), 포화지방4.4g(44%), 트랜스지방0, 콜레스테롤 20mg(10%), 나트륨90mg(5%), 칼슘250mg(35%)</p>
 <p>비락식혜(팔도)</p>	<p>정제수, 엿기름추출액(고형분6.5%이상) 16.4%, 백설탕, 맵쌀, 생강추출액, 비타민C, 효소처리스테비아, 시트러스추출분말, 효소제제</p>	<p>1회제공량1개, 총1회제공량 238ml 열량 85kcal, 탄수화물 21g(6%), 식이섬유 1.8g(7%), 당류17g, 단백질0g, 지방0, 포화지방0, 트랜스지방0, 콜레스테롤0, 나트륨10mg(1%)</p>
 <p>엠투화이버플러스 (㈜웰시안코리아)</p>	<p>정제수, 치커리식이섬유 3.7%(식이섬유 90이상, 칠레산), 액상과당, 구연산, 합성착향료(과일향, 레몬향, 민트향), 비타민C, 정제염, L-카르니틴, 아스파탐(페닐알라닌함유, 합성감미료), 수크랄로스(합성감미료, 비타민B6(피리독신염산염))</p>	<p>1회제공량 1캔(175ml) 1회제공량당 열량50kcal, 탄수화물15g(4%), 당류 9g, 식이섬유 6g(24%), 단백질 0g, 지방0g, 포화지방0g(0%), 트랜스지방0g, 콜레스테롤0mg(0%), 나트륨 45mg(2%)</p>
 <p>상하목장</p>	<p>유기원유 80%(국산), 유기설탕, 유기딸기다이스 5%(유기딸기80% 국산, 유기설탕), 유기딸기퓨레 5%(국산), 정제수, 유기농혼합탈지분유, 유기아가베식이섬유1%, 유산균(S. thermophilus, L.bulgaricus)</p>	<p>1회 제공량 150ml당 열량135kcal, 탄수화물 20g(6%), 식이섬유1.1g(4%), 당류18g, 단백질4g(7%), 지방4.6g(9%), 포화지방3.4g(23%), 콜레스테롤 15mg(5%), 나트륨75mg(4%), 칼슘125mg(18%)</p>

(매일유업)	1억이상/ml)	
 <p>저칼로리 헬스원 Full(롯데)</p>	<p>정제수, 액상과당, 난소화성말토덱스트린(식이섬유85% 이상,2%), 복숭아농축과즙 1.02942%(복숭아,고형분68%), 시클로덱스트린시럽, 산도조절제, 혼합제제1(카라기난,염화칼륨),젖산칼슘,젤란검,글루코만난,혼합제제2(프로판렌글리콜,합성착향료(복숭아향),주정)), 마테추출분말 0.03%, 합성감미료(아세실팜칼륨,수크랄로스), 니코틴산아미드, 비타민B6염산염, 비타민B2인산에스테르나트륨</p>	<p>1회 제공량 180g당 열량 45 kcal, 탄수화물 13g(4%, 당류 9g, 식이섬유 3.6g(14%)), 단백질0, 지방 0.18g, 포화지방0, 트랜스지방0, 콜레스테롤0, 나트륨15mg(1%), 비타민B2 0.21mg(15%), 비타민B6 0.45mg(30%),나이아신 4.5mg(30%)</p>
 <p>쾌변두유 (파스퇴르)</p>	<p>두유액83%(대두고형분8%이상, 대두수입산),정제수,백설탕,화이버졸-2L,치커리식이섬유(칠레산),락츄로스, 정제 고올레산해바라기유, 검은콩농축액(고형분60%, 국내산)0.47%, 검은참깨페이스트0.25%(검은참깨10%, 수입산), 자일로올리고당, 정제소금, 글리세린 지방산에스테르,산탄검,탄산수소나트륨, 합성착향료(검은콩향, 복</p>	<p>1회제공량 190ml당 열량 155kcal, 탄수화물 23g(7%, 식이섬유 7.5g(30%)), 당류 13g, 단백질 6g(10%), 지방 6g(12%, 포화지방 1.2g(8%)), 콜레스테롤 0, 나트륨 180mg(9%)</p>
 <p>수정과(비락)</p>	<p>정제수,엿기름추출액(고형분6.5%이상) 16.4%, 백설탕, 멥쌀, 생강추출액, 비타민C, 효소처리스테비아, 시트러스추출분말, 효소제제</p>	<p>1회제공량 238ml당 열량105kcal, 탄수화물 26g(8%), 당류 26g, 단백질0, 지방0, 포화지방 0, 트랜스지방0, 콜레스테롤 0, 나트륨 30mg(2%)</p>

표 31. 제품의 이화학적 특성 분석

제품명	수분(%)	Brix	pH	환원당 농도(%)
미에로 화이바(현대약품)	88.68	12.0	3.16	7.50
미에로 화이바 미니동아제약	85.08	15.4	3.25	8.38
V8	94.77	5.4	4.39	3.78
야채농장	88.11	12.2	4.15	3.78
쉐이킹 포테이토	79.88	21.2	7.04	3.96
롯데 헬스원 Full	92.92	8.0	3.8	4.85
아침햇살-웅진	87.88	12.2	6.53	4.31
비락 수정과	89.30	11.0	7.95	0.11
쁘띠첼 워터젤리	79.35	21.0	3.45	3.99
팔도 비락 식혜	90.95	9.0	6.70	0.14
엠투화이버플러스	92.04	9.0	3.0	7.64
파스퇴르쾌변두유	81.15	20.5	6.65	1.83
매일 상하목장 요구르트	80.82	15.5	3.97	3.55

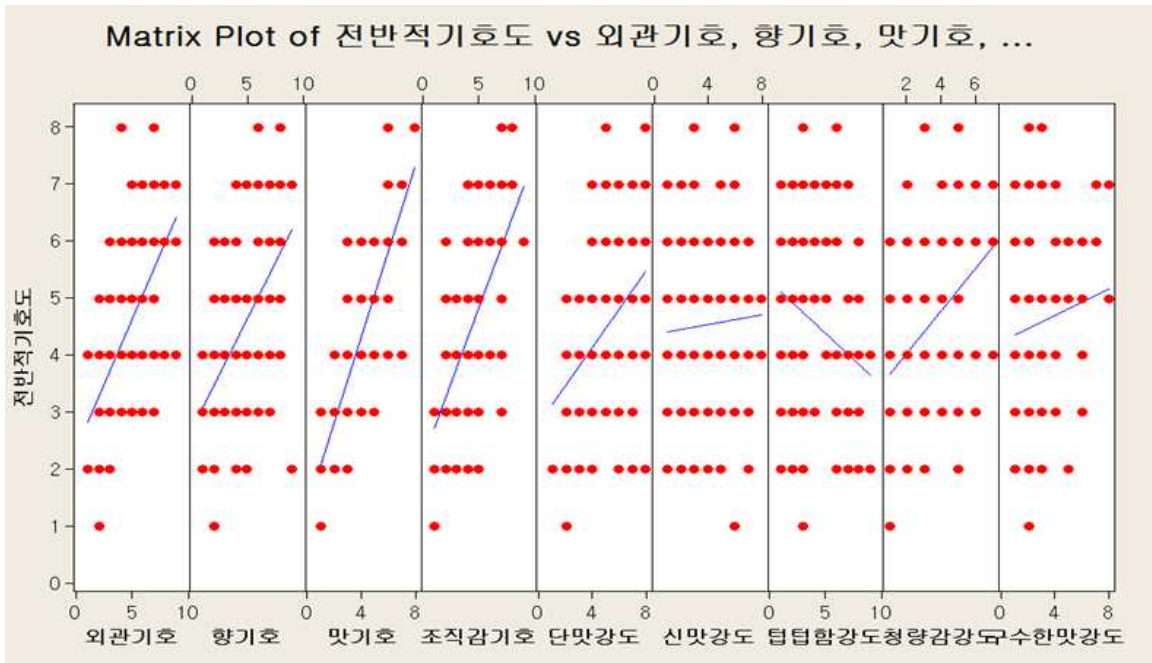


그림 44. 시판제품의 전반적 기호도와 각 향미특성과의 상관관계

표 32. 각 제품별 전반적 만족도 평가 순위

순위	제품명	평가점수(전반적 만족도)
1	식혜	5.36
1	아침햇살	5.36
3	M2화이버 플러스	5.09
3	미에로화이버	5.09
3	화이브 미니	5.09
6	뿌띠첼	4.09
7	레디톡	4.81
8	쉐이킹 포테이토	4.18
8	수정과	4.18
10	착한감귤	3.90
11	하루야채	3.72
12	V8	2.81

2. 현미발효물과 무발효물을 이용한 prototype 설정

가. 식이섬유 첨가 방법 설정

식품 등의 표시기준 영양소 강조 표시에 의하면 식이섬유는 함량에 따라 표기를 달리

할 수 있으며 목표로 설정된 3g/100g의 경우 함유 또는 급원이라는 표기가 가능하다(표 33). 다만, 한식음료의 주원료로 사용되는 현미와 무에 함유되어 있는 식이섬유 함량은 각각 약 1.5%, 3.3% 정도로 음료에 100% 사용한다고 해도 목표인 3g을 충족하기 어렵다.

또한, 부재료를 통해 식이섬유를 충족 하려고 하였으나, 표 34에서 보는 바와 같이 보건복지부 총 식품 중 식이섬유 함량 자료에서도 한식음료 첨가 가능 식품에 함유된 식이섬유 함량이 미미한 수준이었다. 이를 첨가하는 방법에는 농축액, 추출액, 분말 상태로 첨가할 수 있는데 농축, 추출시에 부재료가 가진 상당량의 식이섬유가 소실되며 분말형태로 첨가하는 것은 입안에서의 조직감이 좋지 못하고 첨가 시 뭉침 또는 용해성이 문제가 되어 사용을 지양하였다.

따라서, 목표한 식이섬유를 충족하기 위해 정제된 식이 섬유를 조사해 보았고, 그 중 음료에 적용된 식이섬유로는 폴리덱스트로스, 식이섬유, 말토덱스트린과 같은 제품들을 확인할 수 있었다. 그 중 폴리덱스트로스 등은 음료에서 텁텁한 풍미를 유발하여 제외하였으며, 한식음료의 특성과 어우러질 수 있도록 치커리 식이섬유를 1차적으로 선정하여 prototype 설정에 이용하고자 하였다.

표 33. 식이섬유 강조 표시 기준

함유 또는 급원	100g 당 3g 이상이거나 100kcal당 1.5g이상일 때
고 또는 풍부	100g 당 6g 이상이거나 100kcal당 3g 이상일 때

표 34. 한식음료에 첨가 가능한 식품의 식이섬유 함량(보건복지부자료)

식품	함량(g/100g)	식품	함량(g/100g)	식품	함량(g/100g)
옥수수	3.75	고구마	3.76	강낭콩	19.15
도라지	3.99	더덕	5.10	시금치	3.24
연근	2.31	우영	4.10	오이	1.46
감	2.46	늪호박	3.43	대추	12.75
고춧잎	4.56	풋고추	4.68	깻잎	7.90
브로컬리	2.86	무	1.49	당근	3.06
복숭아	2.05	오렌지	1.95	자두	2.18

나. 제품의 1차 prototype 설정

한식음료의 주재료인 현미발효물은 현미의 구수한 향과 유산균 발효에 의한 새콤달콤한 향이 적절히 어우러져 한식음료의 주요 향미특성을 결정짓는 소재이나, 칼로리 저감 목표를 달성하기 위해 적절한 희석 비율로 한식음료에 구성하였으며, 무발효물은 유산균 발효에 의해 무원료 자체 황화합물의 향을 제어하고 신선한 과실의 새콤한 향과 신맛의

향미 특성을 가지도록 하여 칼로리가 낮으면서 소화흡수가 용이하도록 한식음료의 구성 소재로 사용하여, 최종적으로 현미발효물과 무발효물이 적절하게 조화되어 구수한 맛과 새콤, 시원한 맛으로 구현하고자 하였다.

식품 연구원을 대상으로 사전 테스트를 걸쳐 현미발효물과 무발효물의 개략적인 구성 비를 조사하였고, 한식음료는 총 4가지 타입으로 1차 개발을 진행 하였다(표 35). 사전 조사 결과 주요 향미특성을 결정짓는 현미발효물의 함량은 60%, 현미발효물과 적절한 조화를 위해 무발효물의 향미특성이 너무 강하지 않은 무발효물의 함량은 3%로 하여, 한식음료 네가지 타입의 베이스(현미, 무발효물)로 사용하였으며, 한식음료의 향미특성을 강화하기 위해 생강, 유자, 레몬으로 음료의 각각 특성을 가미 하여 한식음료의 향미특성 및 기호도 상승 정도를 알아보려고 하였다.

표 35. 각 특성별 한식음료 배합비율

원재료(대조구)	함량(%)	원재료(유자타입)	함량(%)
현미발효물	60	현미발효물	60
무발효물	3	무발효물	3
치커리 식이섬유	3	치커리 식이섬유	3
정제수	34	유자농축액	1
합계	100	천연유자향	0.1
		정제수	32.9
		합계	100

원재료(레몬타입)	함량(%)	원재료(생강타입)	함량(%)
현미발효물	60	현미발효물	60
무발효물	3	무발효물	3
식이섬유	3	식이섬유	3
레몬농축액	1	생강농축액	0.1
정제수	33	정제수	33.9
합계	100	합계	100

다. 한식음료 prototype을 이용한 한식음료의 향미특성 도출

4가지 타입으로 제조된 한식음료의 향미특성을 도출하고 한식음료의 맛 방향을 설정하기 위한 관능검사를 진행하였다. 관능검사는 연구원 10명을 대상으로 식후에 제시하여 기호도와 적절성을 9점 척도로 평가하게 하였다. 이때, 한식음료는 기존의 음료와는 다른 특성을 지니므로 한식음료만의 특성을 도출하기 위하여 구수한정도, 청량한정도(먹었을 때 입안을 시원하게 해주는 느낌, 탄산을 먹었을 때의 느낌), 식후 마시기 좋은 정도, 한식과의 연관성, 깔끔한 정도(입안을 개운하게 하고, 음료의 잔여감이 남지 않는 느낌), 마시기

편안한 정도를 구분하여 평가 하도록 하였으며, 이 향미특성은 관능평가 결과 전반적 기호도에 모두 양의 상관성을 가진 인자로 확인되었다(그림 45).

현미발효물과 무발효물을 혼합하여 베이스로 한 음료와 각 농축액을 첨가하여 향을 부여하였을 때 시료들에 대한 각 관능평가 시 전반적 기호도, 맛 기호도, 외관 기호도, 향 기호도에서는 유의적인 차이가 나타나지 않았으나 전반적 기호도는 생강, 유자가 다소 높게 나타났다(그림 36).

전반적 기호도가 다소 높았던 생강타입의 경우 한식음료의 적절성 평가에서는 각 특성별로 청량감 강도를 제외하고 모든 항목에서 유의적인 차이를 나타냈다(그림 37). 이에 따라 한식음료는 구수하고, 한식과의 연관성이 높고, 깔끔하고, 먹기 편안한 정도의 수준을 유지해야 할 것으로 사료되어 생강을 한식음료의 주요부재료 및 풍미로 선정하였으며, 차후 기호도를 상승시키기 위하여 각 원재료별 함량 및 설정에 대한 각 항목별 요인설계가 필요할 것으로 판단하였다.

또한 prototype 설정하는 단계로 진행하여 컨셉을 제시하지 않은 상태이므로 전반적 기호도가 상승하지 않은 것으로 생각되며 차후 관능평가에서는 컨셉을 구체적으로 제시하고 평가를 진행해야 할 것으로 사료되었다.

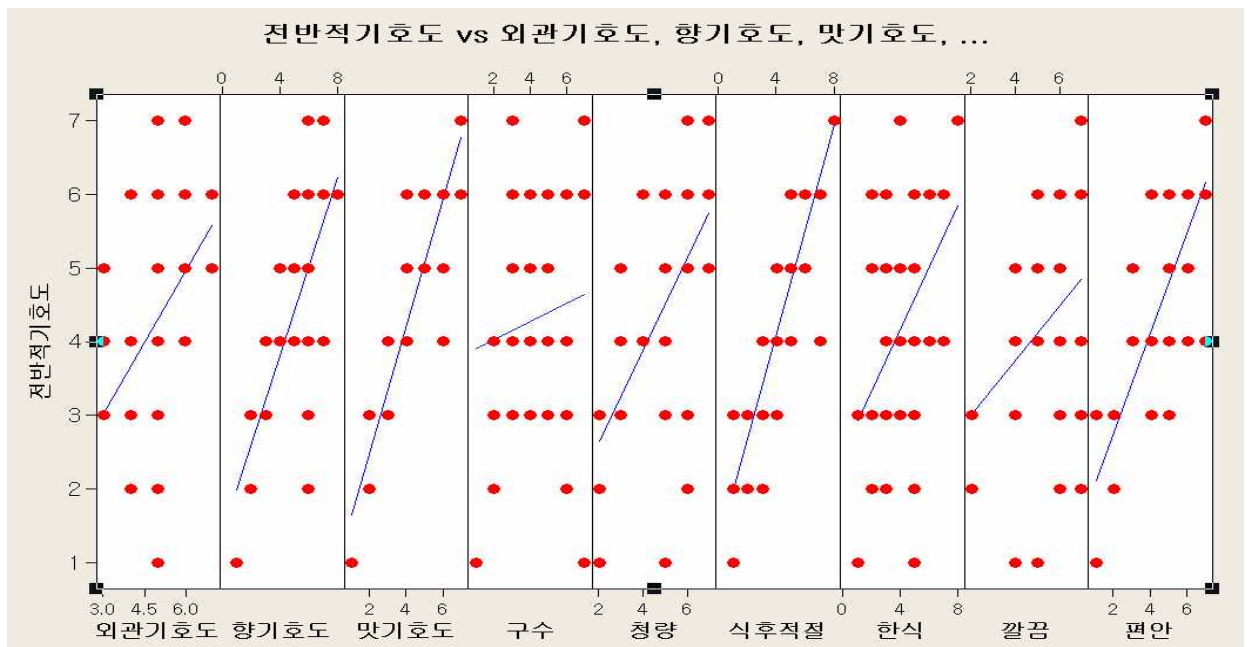


그림 45. 한식음료의 전반적 기호도에 영향을 미치는 향미특성 인자

표 36. 기호도 평가 결과

구분	전반적기호도	맛기호도	외관기호도	향기호도
생강 첨가	4.6	4.5	4.9	5.4
유자 첨가	4.6	4.4	5.0	4.8
레몬 첨가	4.1	3.8	3.8	4.7
베이스(대조구)	3.8	3.6	3.6	4.2

표 37. 적절성 평가 결과

구분	구수한 정도	청량감 정도	식후 적절성 정도	한식연관성	깔끔함 정도	먹기 편한 정도
생강첨가	5a	4.4bc	5.1a	5.3a	6.2a	4.8
유자첨가	3c	5.6a	4.29a	3.9ab	5.7ab	4.6
레몬첨가	3.5bc	5.2ab	3.8a	3.4b	5.2ab	3.9
베이스(대조구)	4.6ab	3.3c	3.8a	4.3ab	4.7b	3.5

3. 발효소재 및 원재료 특성파악 및 음료 prototype의 배합비 실험설계 및 통계분석

가. 각 원재료의 특성 파악

1차 prototype 설정을 통해 각 원재료의 특성을 파악하였으며, 그 특성을 살펴보면 현미 유산균발효물은 구수함, 시원한 단맛을 나타내는 원재료이나 함량이 높아질수록 단맛이 강하고 칼로리가 높아지는 경향을 보였으며, 무발효물은 초기에 마늘을 포함하여 발효한 동치미 타입으로 한식음료에 적용되었으나 마늘향이 강한 단점이 있어 마늘을 사용하지 않은 마늘0% 타입의 무발효물을 적용하였다. 생강농축액은 농축비율이 높은 타입보다는 생강즙을 바로 짜서 낮은 Brix로 농축하여 신선한 생강향을 부여한 타입이 긍정적인 영향을 끼치는 것으로 생각되었다.

나. 실험설계법 중 요인 설계 분석을 활용한 통계분석

한식과의 연관성이 높고 세계인의 입맛에도 익숙한 생강과 시원한 맛을 주는 무발효물, 구수한맛과 새콤한 맛을 부여하는 현미유산균 발효물이 한식음료의 주요 속성을 결정 짓는 중요한 요소로 판단하여 3가지 원재료에 대한 3요인, 2수준 설계 분석을 진행하였다.

1차 테스트에서 한식음료의 풍미를 좌우하는 원재료는 현미유산균 발효물로 한식음료의 풍미를 떨어뜨리지 않는 함량인 40%를 최저함량으로 정하고, 현미유산균 발효물은 함량이 높아질수록 기호도가 증가하는 경향을 보였으나 칼로리적인 측면에서 칼로리를 높이는 부분이 있으므로 최대함량을 70%로 설정하였으며 수준으로는 최저와 최대함량을 고

려한 40~70%인 2수준으로 설정하였다. 한식음료에 시원한 맛을 부여하는 무발효물은 5% 이상 첨가시 무 특유의 향이 부정적 영향을 끼치므로 최저함량인 1%-5%로 설정하였으며, 생강농축액은 0.3% 이상 첨가시 매운향이 강하게 느껴져 0.3%를 최대함량으로 설정하였다. 각 요인별 2수준에 대한 실험계획은 미니탭 software에서 진행하였으며 8번의 실험계획이 설정되었다.(표 38)

8가지에 대한 배합비율을 설정하여 그 특성을 확인하기 위하여 기호도 평가를 진행하였으며 전반적 만족도를 조사하였다. 기호도 평가는 시료가 8가지이므로 각 시료에 대한 기호도의 명확성을 위하여 순위법으로 측정하였다. 기호도 평가를 진행한 결과 standard odertype 6번 타입이 유의적 차이가 있는 수준에서 가장 높은 수준으로 평가되었으며 유사한 수준으로 2번타입이 기호도가 높게 평가되었다.(표 38, 그림 46)

또한 각 요인인 발효소재 및 원재료의 주효과도(Main Effect plot for 전반적 만족도)를 살펴 보면 현미 유산균 발효물은 70%에서 전반적 만족도에 끼치는 영향이 크고, 무발효물은 1%에서 전반적 만족도에 끼치는 영향이 크며 생강농축액은 0.3%가 전반적 만족도에 끼치는 영향이 큰 것을 알 수 있다.(그림 47) 다만 현미유산균 발효물의 함량은 70%가 기호도에 미치는 영향이 크게 나타났으나, 40%에 대한 니즈가 있는 것으로도 나타났다. 현미유산균 발효물 70%의 경우 단맛이 높은 편으로 단맛을 좋아하는 경우 현미유산균 발효물 70%를 선호하였을 가능성이 높고 단맛을 좋아하지 않는 경우 40% 함량을 선호한 것으로 보인다.

분산분석을 통한 평균값에 대한 차이를 보더라도 현미유산균 발효물 40%에 대한 조합이 유의적 수준 2순위를 나타내었으므로 의미있는 결과로 볼 수 있다. 이에 따라 현미유산균 발효물의 함량을 달리하여 각각의 맛타입을 다르게 진행하여 소비자의 선호도를 확인하고자 하였다. 이때 현미유산균 발효물 함량이 다른 두가지 타입을 각각 칼로리 낮은 타입과 높은 타입으로 구분하여 진행하기로 하였다.

표 38. 3요인 2수준에 실험계획

	현미발효물	무발효물	생강농축액
1	40	1	0
2	40	1	0.3
3	40	5	0
4	40	5	0.3
5	70	1	0
6	70	1	0.3
7	70	5	0
8	70	5	0.3

표 39. 각 시료별 결과값에 대한 분산분석을 통한 Grouping 및 평균값 도출

시료번호	Data Mean	Grouping
6	7.375	a
2	6.125	ab
5	5.875	b
8	4.750	bc
1	4.750	bc
7	3.625	cd
4	2.250	de
3	1.500	e

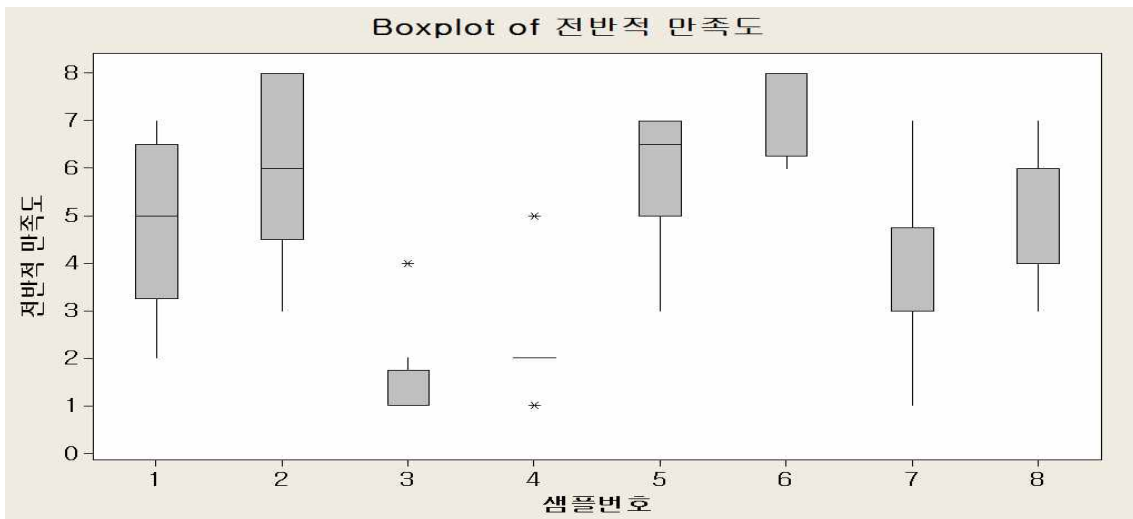


그림 46. 전반적 기호도에 대한 각 타입별 Box 그래프

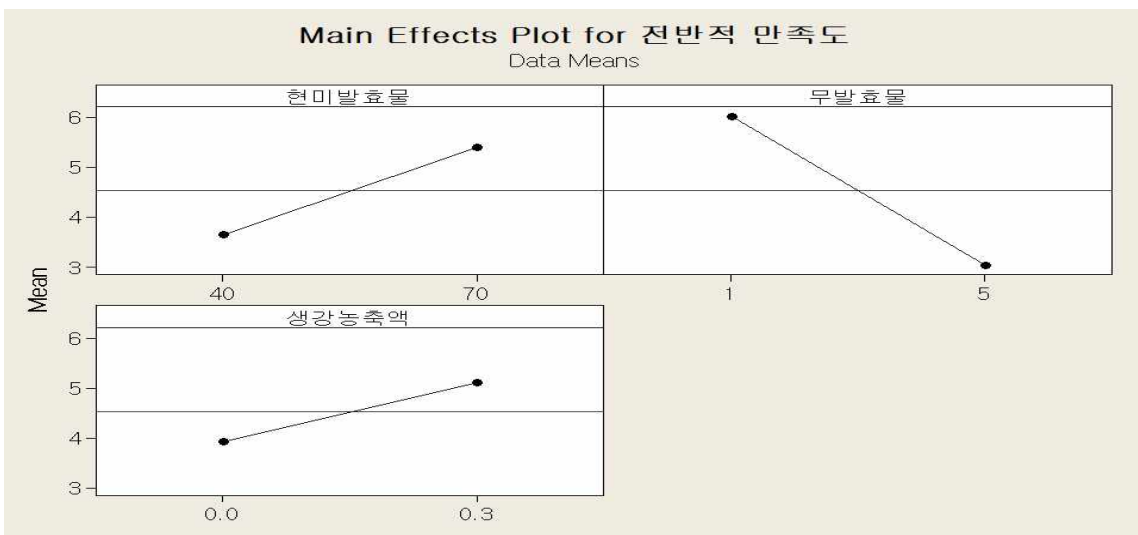


그림 47. 각 발효물 및 원재료별 전반적 만족도에 미치는 주효과도

4. 2차 prototype 최적 배합비율 설정

2차 prototype 설정은 현미유산균발효물의 함량을 40%, 70% 타입으로 각각 나누었으며 무발효물은 1%, 생강농축액은 0.3%로 확정하였고 1차적으로 부재료로 선정된 치커리식이섬유 함량을 감안하여 3.75%를 첨가하는 것으로 확정하였다. 이때 한식음료의 향미를 증진시키고자 발효주정을 각 2% 첨가하는 것으로 진행하였으며 발효주정은 알코올을 50%를 포함하는 증류주에 해당하는 것으로 음료에서 총 알코올 함량이 1%미만이면 음료로 분류가 가능하다. 실제로 발효주정을 첨가한 것에 대한 유의적인 차이는 아니나 연구원 기호도가 높아졌으며(표. 40) 그에 따른 한식음료 prototype 배합비율은 표 41과 같다.

표 40. 발효주정 첨가 전과 후의 관능 비교(5점 척도, 선택식품연구원 10명 대상)

	발효주정 첨가 전	발효주정 첨가 후
전반적 기호도(40%)	3.0	3.5
전반적 기호도(70%)	3.4	3.6

표 41. 한식음료 prototype 배합비율

원재료명	함량(w/w)%	원재료명	함량(w/w)%
현미유산균발효물	40	현미유산균발효물	70
식이섬유	3.75	식이섬유	3.75
발효주정(알콜함량50%)	2	발효주정(알콜함량50%)	2
무발효물(마늘0%)	1	무발효물(마늘0%)	1
생강농축액	0.3	생강농축액	0.3
정수	52.95	정수	22.95

5. 외국인 소비자 조사(한식연)에 따른 prototype 변경

확정된 두가지 type은 한국식품연구원에서 외국인 소비자 조사(미국 아이오와 주립대/ N=100)를 진행하였다. 외국인 소비자 조사 결과에서 두가지 제품 모두 9점 척도에 3.5점 이하로 낮은 기호도를 보였으며 이는 발효취와 신맛, 약한 단맛의 특성을 보이기 때문으로 분석되었으며 발효음료의 미국인 기호도 향상을 위해서는 발효취로 인한 쿼퀴함을 억제하고 청량감과 과실 flavor, 신맛, 단맛 조절이 중요한 인자로 파악되었다. 이에 따라 prototype의 개선 및 배합비율 변경이 불가피 하였다.

배합비율의 주된 개선방향은 발효취로 인한 쿼퀴함을 억제하고 청량함과 과실 flavor를 향상시키는 방향으로 진행하였다. 따라서 기존 방향인 현미유산균 발효물을 함량별로 첨가하는 칼로리별 두가지 타입으로 진행하되 미국인 기호도 조사 결과를 토대로 flavor 향상을 위해 발효주정은 알콜취 및 발효취로 느끼게 하였으므로 배합비율에서 삭제하고, 천연과일의 flavor를 첨가하기로 하였다.

천연과일의 flavor는 그 종류가 매우 다양하나, 현미유산균발효물과 무발효물이 조합되었을 때 가장 적합한 향을 선정하였다. 천연향의 1차 선별로는 새콤함과 신 선함이 있는 포도, 복숭아, 레몬, 오렌지, 사과, 탄저린, 딸기향으로 선별하였으며 두 가지 타입의 포플러에 각각 적용하였다. 다만 이때의 함량은 0.06%로 적용하여 한식음료 고유의 풍미를 해치지 않는 수준으로 적용하였다.

각 천연향을 타입별로 적용하여 순위법으로 측정하였을 때(n=8, 샘플 연구원) 칼로리가 낮은 타입에는 탄저린향이 가장 높은 순위를 유지하였으며(표 42) 칼로리가 높은 타입에는 사과향이 가장 높은 순위를 유지하였다. 각각 타입별로 어울리는 과일향이 있음을 알 수 있다. (표 44)

표 42. 현미유산균 발효물 40% 적용 천연 과일향 순위

포도	복숭아	레몬	오렌지	사과	탄저린	딸기
5	4	3	6	2	1	7

*현미유산균 발효물 40%, 순위법, n=8(샘플식품 연구원)

표 43. 현미유산균 발효물 70% 적용 천연 과일향 순위

포도	복숭아	레몬	오렌지	사과	탄저린	딸기
6	4	2	7	1	3	6

*현미유산균 발효물 70%, 순위법, n=8(샘플식품 연구원)

6. 한식음료 prototype 최적 배합비율

각 현미발효물 타입별 40%, 70% 배합비율을 최종 prototype로 설정하였다.

(표 44)

표 44. 최종 prototype 배합비율

원재료명	함량(w/w%)	원재료명	함량(w/w%)
현미유산균 발효물	40	현미유산균발효물	70
식이섬유	3.75	식이섬유	3.75
익힌무발효물	1	익힌무발효물	1
생강농축액	0.3	생강농축액	0.3
천연 탄저린향	0.06	천연 사과향	0.06
정수	54.89	정수	24.89
합계	100	합계	100

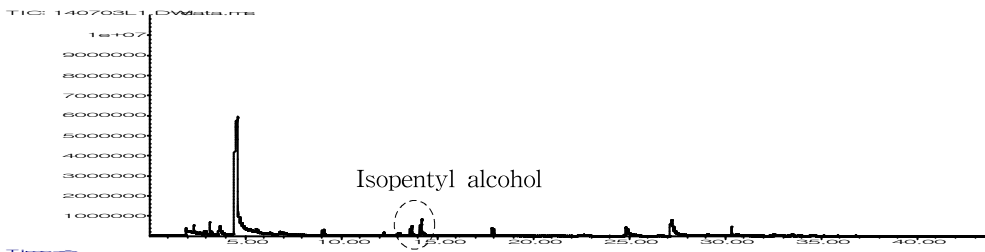
7. 한식음료 향미성분 분석 결과

가. 한식음료 GC-MS 분석 결과

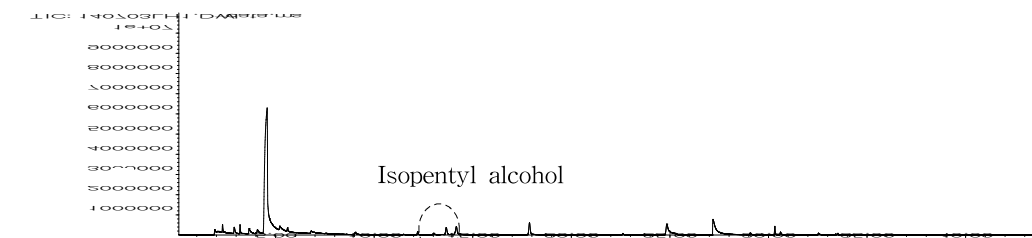
그림 48 결과에서 고칼로리 한식음료의 시료 (d, e)에서 저칼로리 한식음료 시료 (b, c)에 비해 ester류가 정성 및 정량적으로 많이 검출되었다. 한식음료의 GC-MS total ion chromatogram을 보면 저칼로리 한식음료 (a)에서 저칼로리 한식음료를 열처리 (b)하거나 초고압처리 (c)한 시료보다 isopentyl alcohol의 함량(14.18분)이 높음을 알 수 있다. 고칼로리 한식음료의 GC-MS total ion chromatogram (d)에서는 isopentyl alcohol (14.18분)과 carane (30.56분)의 peak가 고칼로리 한식음료를 열처리한 시료 (e)에서보다 더 크게 나타났다.

한식음료 시료별 GC-MS total ion chromatogram은 그림 48과 같다.

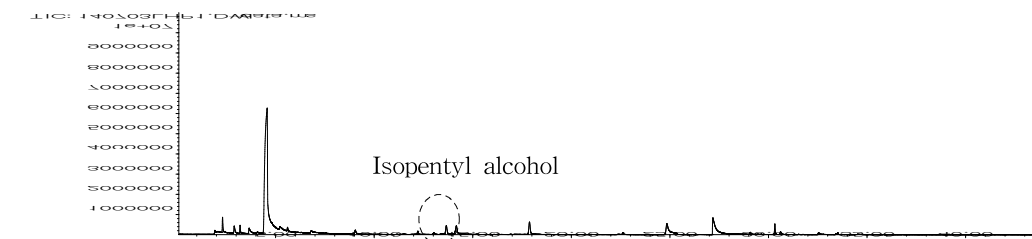
(a) 저칼로리 한식음료



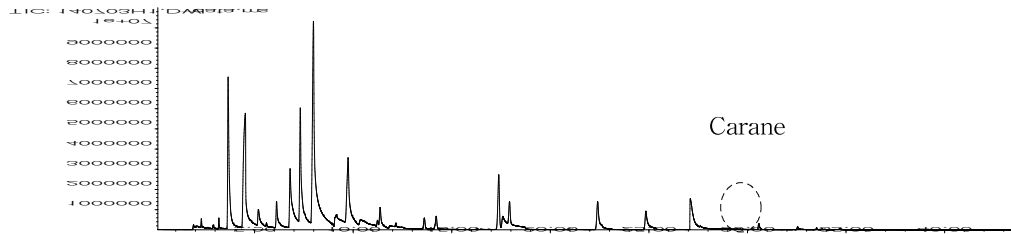
(b) 저칼로리 한식음료를 열처리한 시료



(c) 저칼로리 한식음료를 초고압처리한 시료



(d) 고칼로리 한식음료



(e) 고칼로리 한식음료를 열처리한 시료

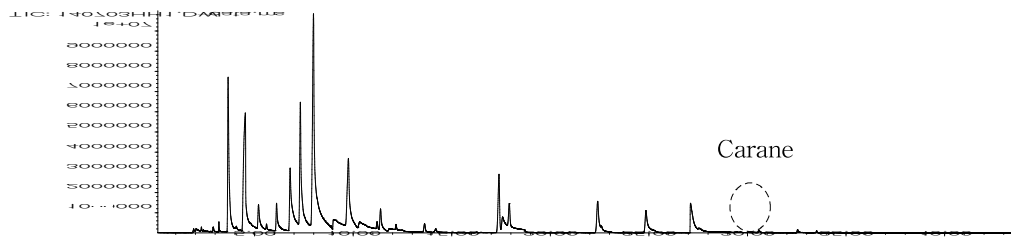


그림 48. 한식음료의 GC-MS total ion chromatogram

나. 한식음료 정성 및 정량

한식음료 5종 시료의 휘발성 성분들을 SPME 추출을 이용하여 GC-MS로 분석한 결과, 다음과 같은 총 50가지의 휘발성 성분들이 동정되었다: isovaleraldehyde, trans-calamene, acetoin, alloaromadendren, ar-curcumene, α -cedrene, (-)- α -pinene, isobutyraldehyde, isopropenylethyl alcohol, dimethyl disulfide, 1,8-cineole, acetic acid, 1-decanol, dl-limonene, 1-butanol, cis-carne, R(+)-limonene, diacetyl, 1-propanol, isopentyl alcohol, isobutyl alcohol, isobutyl butanoate, camphene, methyl heptanone, propyl acetate, cymene, unknown 1, isoborneol, ethyl acetate, camphor, γ -terpinene, benzeneethanol, 1-octanol, hexyl acetate, butyl acetate, 1-hexanol, isoamyl acetate, isobutyl acetate, ethyl butyrate, ethyl 2-methylbutyrate, (-)- β -pinene, unknown 2, delta-3-carene, toluene, ocimene, unknown 3. 저칼로리 한식음료와 저칼로리 한식음료를 열처리, 초고압처리한 시료 모두에서 37가지의 휘발성 성분들이 동정되었고, acid류 (1), alcohol류 (9), aldehyde류 (2), benzene류 (2), carbonyl류 (2), ester류 (2), sulfur-containing compound류 (1), terpene류 (14), 기타 종류 4 종이 동정되었다. 고칼로리 한식음료에서는 38가지의 휘발성 성분들이 동정되었고, 고칼로리 한식음료를 열처리한 시료에서는 36가지의 휘발성 성분들이 동정되었으며, 공통적으로 acid류 (1), alcohol류 (6), aldehyde류 (2), benzene류 (1), carbonyl류 (3), ester류 (12), hydrocarbon류 (1), terpene류 (8), 기타 종류 3 종이 동정되었다.

표 45. 한식음료 휘발성 향미성분

RT (min)	Compounds	Odor Descriptions	Aroma threshold value (in water)
4.08	Isovaleraldehyde	Pungent, cocoa, green fruity odor; cheesy-sweaty-cocoa fruity in dilution	0.2-2 ppb
35.66	trans-Calamenene	herb, spice	
17.88	Acetoin	Creamy-buttery, yogurt-like odor and flavor	800 ppb
33.91	Alloaromadendren	wood	
34.68	ar-Curcumene	Herb	
33.78	α -Cedrene	Sweet dry tea peculiar fatty woody odor	
6.29	(-)- α -Pinene	Resinous, pine odor; turpentine taste	6 ppb
2.915	Isobutyraldehyde	Pungent, malt, green sharp, pungent odor	0.4-43 ppb
16.24	Isopropenylethyl alcohol	Sweet, fresh, green, herbal, fruity	
7.876	Dimethyl disulfide	Strong onion, cabbage-like odor	0.06 ppb
13.65	1,8-Cineole	Strong, camphoraceous, cool, fresh odor	12 ppb
27.18	Acetic acid	Pungent, sour, vinegar odor with sour, acid taste	22,000 ppb
34.52	1-Decanol	Sweet, fatty oily, waxy, floral notes; fatty, orange-like taste	6-47 ppb
13.01	dl-Limonene	Hydrocarbon citrus-terpentine note; often harsh	4-229 ppb
11.15	1-butanol	Breathtaking, winey, fusel oil-like	500 ppb
30.56	cis-Carane		
33.41	R(+)-Limonene	Fresh, sweet, hydrocarbon and orange citrus odor	10 ppb
5.22	Diacetyl	Strong, buttery odor and taste on dilution	2.3 ppb
6.95	1-Propanol	Alcoholic, fermented sweet odor; bland fermented, fusel fruity flavor	9,000 ppb
14.18	Isopentyl alcohol	Breathtaking, alcoholic odor; in dilution a winey-brandy taste	250 ppb
9.06	Isobutyl alcohol	Breathtaking, sweet, sweaty-chemical; fermented, whiskey-like in dilution	7,000 ppb
11.36	Isobutyl butanoate	Sweet-fruity, reminiscent of pear, pineapple, banana rummy odor/flavor	n/a
7.55	Camphene	Oily, weet camphoraceous odor	8.2-41 ppb
20.95	Methyl heptenone (6-methyl-5-hepten-2-one)	Oily-green, herbaceous odor; green fruity taste	50 ppb
5.19	Propyl acetate	Fruity, ethereal, fusel, estry, pear like odor and taste	2.7-11 ppm

16.89	Cymene	Strong, characteristic, terpene odor; citrusy	6-150 ppb
5.59	Unknown 1		
33.55	Isoborneol	Camphoraceous, somewhat pine-needle like aroma and taste	2.5-16 ppb
3.65	Ethyl acetate	Ethereal, sharp, wine-brandy like odor	5 ppb
29.07	Camphor	Fresh, minty-cooling characteristic camphor odor; bitter taste	1-1.29 ppm
31.52	γ -terpinene	Refreshing herbaceous-citrus like terpene odor&flavor;; characteristic lemon odor, slightly bitter, herbaceous, citrus-like flavor; woody, terpene, tropical lemon odor	n/a
36.78	Benzeneethanol	Floral, rose-like odor; floral taste	750-1100 ppb
30.61	1-Octanol	Orange-rose, waxy, sweet odor; waxy, green, citrus taste	110 ppb
17.38	Hexyl acetate	Sweet, fruity, pear-apple like odor; green, banana, apple-pear like taste	2 ppb
7.98	Butyl acetate	Strong, sweet, fruity; banana, pear, pineapple notes	66 ppb
22.38	1-Hexanol	Chemical, winey, slight fatty-fruity odor	2,500 ppb
9.74	Isoamyl acetate	Sweet, fruity, banana, pear odor&taste	2 ppb
6.11	Isobutyl acetate	Fruity, banana-apple-pear-pineapple notes	66 ppb
6.80	Ethyl butyrate	Ethereal, fruity odor; buttery-pineapple-banana, ripe fruit&juicy notes	1 ppb
7.31	Ethyl 2-methylbutyrate	Strong, green, fruity, apple odor and taste; also some strawberry notes	0.1-0.3 ppb
11.47	(-)- β -pinene	Dry, woody, pine like, resinous odor; turpentine like taste	140 ppb
29.45	Unknown 2		
30.32	Delta-3-carene	Fresh, sweet, coniferous turpentine like notes	n/a
6.81	Toluene	Paint	
16.05	β -Ocimene	Reminding of a licorice, anise, citrus, lime combination	
31.73	Unknown 3		

* RT: Retention time

* Odor description: Flavor-base 2010 Professional, Leffingwell & Associates; Flavornet; Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients

* Aroma threshold value: odor threshold in water

* In order of PLS-DA based VIP value of 한식음료 sample

표 46. 한식음료 휘발성 향미성분 정량

	Lo	LH	LP	Hi	HH
Acids					
Acetic acid	1.8992±0.1075	1.3800±0.2268	1.5159±0.0657	1.5426±0.1278	1.1687±0.0670
Alcohols					
Benzeneethanol	0.0049±0.0024	0.0032±0.0018	0.0031±0.0011	0.0011±0.0004	-
1-Butanol	0.0073±0.0005	0.0068±0.0004	0.0058±0.0016	0.0903±0.0.0029	0.1271±0.0055
1-Decanol	0.0039±0.0003	0.0040±0.0005	0.0038±0.0005	0.0021±0.0003	0.0008±0.0002
1-Hexanol	0.0143±0.0007	0.0142±0.0003	0.0133±0.0010	0.8486±0.0141	0.7794±0.0175
Isobutyl alcohol	0.3176±0.0252	0.1639±0.0559	0.2202±0.0848	0.0260±0.0057	0.0108±0.0012
Isopentyl alcohol	1.2376±0.2467	0.7502±0.2980	0.7551±0.3082	0.4323±0.0223	0.0952±0.0036
Isopropenylethyl alcohol	0.0074±0.0005	0.0066±0.0007	0.0069±0.0003	0.0118±0.0004	0.0078±0.0005
1-Propanol	0.0271±0.0009	0.0128±0.0057	0.0200±0.0089	-	-
1-Octanol	0.0941±0.0038	0.0912±0.0023	0.0889±0.0049	-	-
Aldehydes					
Isobutyraldehyde	0.1199±0.0233	0.2360±0.0263	0.2018±0.0585	0.0752±0.0071	0.0704±0.0065
Isovaleraldehyde	0.0225±0.0048	0.1898±0.0405	0.0761±0.0174	0.0126±0.0045	0.0301±0.0020
Benzene&Benzene derivatives					
Cymene	0.0114±0.0014	0.0085±0.0016	0.0088±0.0018	0.0032±0.0005	0.0035±0.0002
Toluene	0.0420±0.0040	0.0395±0.0092	0.0355±0.0134	-	-
Cabonyls					
Acetoin	0.4573±0.0715	0.4868±0.0246	0.5081±0.0237	0.5803±0.0184	0.4693±0.0071
Diacetyl	0.1374±0.0045	0.1886±0.0392	0.1685±0.0263	0.0487±0.0045	0.2563±0.3239
Methyl heptenone	-	-	-	0.0057±0.0008	0.0037±0.0003
Esters					
Butyl acetate	-	-	-	9.4194±0.3001	8.0088±0.1562

Ethyl acetate	0.5611±0.0405	0.2726±0.0139	0.2848±0.0240	4.0209±0.2084	3.2511±0.0705
Ethyl butyrate	0.0203±0.0043	0.0119±0.0011	0.0164±0.0028	2.3718±0.0917	2.0730±0.0406
Ethyl 2-methylbutyrate	-	-	-	3.4879±0.1403	3.1243±0.0748
Hexyl acetate1	-	-	-	1.4801±0.1103	1.2568±0.0154
Hexyl acetate2	-	-	-	1.4662±0.0893	1.3622±0.0353
Isoamyl acetate1	-	-	-	3.0890±0.0531	2.6380±0.0396
Isoamyl acetate2	-	-	-	0.64070.0473	0.5549±0.0403
Isobutyl butanoate1	-	-	-	0.4629±0.0390	0.5618±0.0335
Isobutyl butanoate2	-	-	-	0.2944±0.0518	0.3159±0.0201
Isobutyl acetate	-	-	-	0.8631±0.0529	0.7433±0.0206
Propyl acetate	-	-	-	0.0777±0.0040	0.1696±0.1810
Hydrocarbons					
cis-Carane	-	-	-	0.1373±0.0149	0.0715±0.0174
Sulfur-containing compounds					
Dimethyl disulfide	0.0076±0.0017	0.0196±0.0031	0.0087±0.0014	-	-
Terpenes&Terpenoid s					
Alloaromadendrene	0.0059±0.0004	0.0028±0.0003	0.0023±0.0006	0.0078±0.0016	0.0014±0.0009
(-)- α -Pinene	0.0406±0.0120	0.0080±0.0007	0.0100±0.0010	-	-
(-)- β -Pinene	0.0290±0.0013	0.0222±0.0009	0.0251±0.0014	-	-
Camphene	0.0313±0.0036	0.0184±0.0015	0.0221±0.0013	-	-
Camphor	0.0755±0.0038	0.0543±0.0014	0.0629±0.0007	0.0036±0.0001	0.0031±0.0003
ar-Curcumene	0.0114±0.0003	0.0042±0.0014	0.0037±0.0011	0.0124±0.0015	0.0017±0.0006
trans-Calamenene	-	-	-	0.0018±0.0004	-
α -Cedrene	0.0082±0.0008	0.0027±0.0005	0.0028±0.0017	0.0101±0.0029	0.0016±0.0001

dl-Limonene	0.1630±0.0443	0.0678±0.0020	0.0708±0.0071	-	-
R(+)-Limonen	0.0126±0.0003	0.0164±0.0006	0.0133±0.0010	0.0026±0.0001	0.0026±0.0002
1,8-Cineole	0.4479±0.0292	0.2793±0.0187	0.3146±0.0082	0.2958±0.0183	0.1995±0.0065
Delta-3-carene	0.2250±0.0129	0.1947±0.0271	0.2248±0.0159	0.0023±0.0002	0.0025±0.0004
Isoborneol	0.0379±0.0007	0.0309±0.0013	0.0369±0.0017	0.0243±0.0008	0.0219±0.0014
γ-Terpinene	0.0072±0.0004	0.0070±0.0008	0.0073±0.0008	-	-
Ocimene	0.0050±0.0004	0.0042±0.0004	0.0051±0.0009	-	-
Miscellaneous					
Unknown 1	0.0891±0.0073	0.0825±0.0149	0.0980±0.0150	0.0493±0.0047	0.0585±0.0058
Unknown 2	0.0095±0.0011	0.0080±0.0005	0.0083±0.0002	0.0060±0.0007	0.0052±0.0004
Unknown 3	0.0058±0.0003	0.0048±0.0002	0.0051±0.0002	-	-

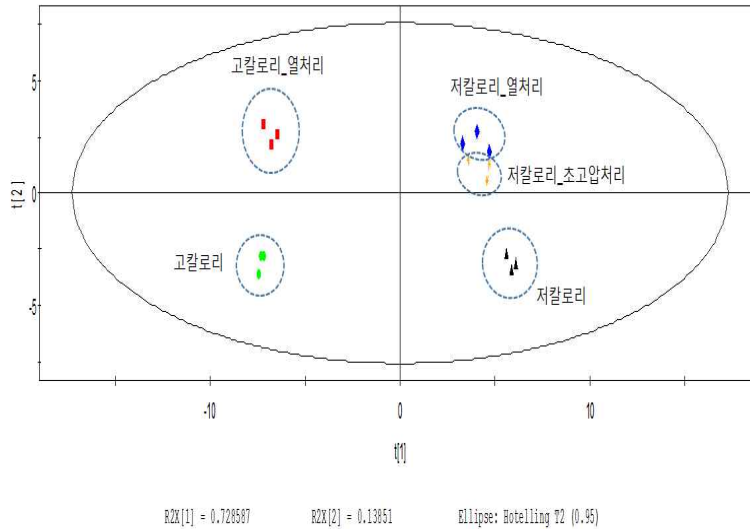
* 정량값: (각 성분 peak area/내부표준물질의 peak area)의 평균 ± Standard deviation

다. 다변량통계 분석을 이용한 한식음료 차이 분석

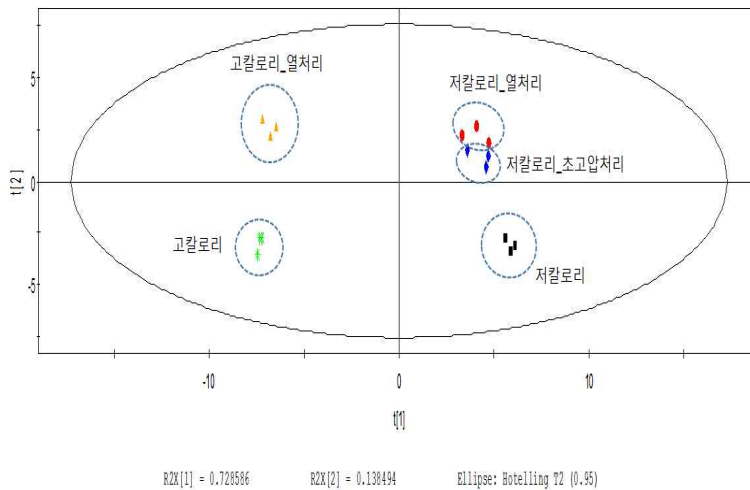
한식음료 5종 시료의 휘발성 성분 차이를 알기 위해 다변량통계 분석을 실시하였다. PCA 결과, PC 1과 PC 2에 의하여 시료가 분리됨을 확인할 수 있었고, 이 때 PC 1과 PC 2의 누적 기여율은 86.71%였고, 각각 72.86%, 13.85%의 분산 기여율을 가졌다 (그림 49 (a)). 이 때, PCA 결과에서 저칼로리 시료와 고칼로리 시료가 뚜렷이 분리됨을 확인하고 PLS-DA 분석한 결과 (b), 특히 저칼로리 한식음료 그룹과 고칼로리 한식음료 그룹이 PLS 1을 기준으로 분리됨을 볼 수 있었다. PLS-DA 기반 VIP value를 0.9 이상으로 설정한 loading plot 결과, PLS 1의 양의 방향 분리에 기여한 물질은 isobutyraldehyde, isovaleraldehyde, diacetyl, (-)- α -pinene, dimethyl disulfide, dl-limonene, 1,8-cineole, acetic acid, R(+)-limonene, 1-decanol이었고, 음의 방향으로 기여한 물질은 1-butanol, isopropenylethyl alcohol, acetoin, cis-carane, α -cedrene, alloaromadendren, ar-curcumene, trans-calamenene이었다 (그림 49 (c)).

저칼로리 시료는 고칼로리 한식음료 시료에 비해 aldehyde류, acid류, sulfur-containing 성분들의 함량이 높았으며, 이들에 의해 좀 더 pungent하고 green, pine-like, citrus, orange-like 및 sweet한 향을 나타낼 수 있다. 고칼로리 한식음료는 저칼로리 한식음료에 비해 alcohol류, carbonyl류의 영향을 더 받았으며, 이에 따라 좀 더 winey, herbal, fatty, woody한 향 특성등과 관계될 수 있다.

(a)



(b)



(c)

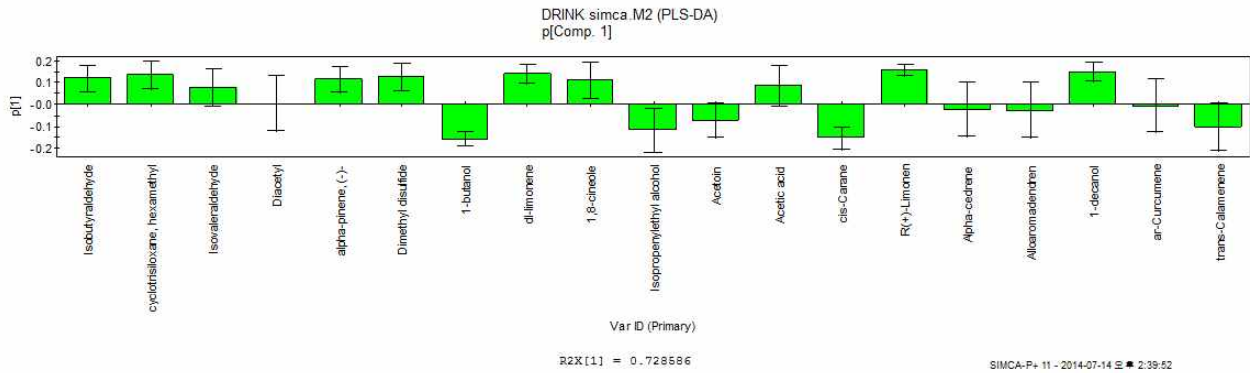


그림 49. 한식음료 5종의 휘발성 향미성분 PCA 기반 score plot (a), PLS-DA 기반 score plot (b), PLS-DA 기반 loading plot (VIP>0.9) (c)

고칼로리 한식음료와 고칼로리 한식음료를 열처리한 시료의 차이를 보기 위해 PLS-DA를 실시한 결과, PLS 1 (70.17%)를 기준으로 양의 방향에 고칼로리 한식음료 시료가, 음의 방향에는 고칼로리 한식음료를 열처리한 시료가 위치하고 있음을 볼 수 있었다 (그림 50). 이 때, PLS-DA 기반 VIP value 0.9 이상으로 유의적인 차이가 있는 물질들은 ethyl acetate, isovaleraldehyde, unknown1, isobutyl acetate, ethyl butyrate, ethyl 2-methylbutyrate, butyl acetate, isobutyl alcohol, isoamyl acetate1 & 2, 1-butanol, isobutyl butanoate1, 1,8-cineole, isopentyl alcohol, isopropenylethyl alcohol, hexyl acetate 1 & 2, acetoin, methyl heptanone, 1-hexanol, acetic acid, camphor, cis-carane, isoborneol, α -cedrene, alloaromadendren, 1-decanol, ar-curcumene, trans-calamenene, benzeneethanol로 표 2-2-3.3과 같았다.

Terpene류는 식물체에서 기원하는 성분이고 여러 종류의 essential oil에서 발견된다 (Reineccius, 2006). Glycolysis 이후, mevalonate pathway와 MEP/DOXP pathway를 거쳐 terpene의 일종인 terpenoid류가 생성된다 (Kanehisa Laboratories, 2010). Terpene hydrocarbons는 보통 flavoring constituents의 희석매개체나 운반체 역할을 하기도 하지만, 그 자체로도 특정 식품의 freshness와 관련이 있기도 한다. (Reineccius, 2006). Reineccius (2006)에 의하면 citrus flavored 음료에서 terpene류는 acid catalyzed에 의한 분열로 이취 성분으로 바뀌기도 한다. acetic acid 등의 acids함량이 높은 고칼로리 열처리 시료에서 terpene류가 분열하여 함량이 줄어들었을 가능성이 제기된다. Floral향을 지닌 benzeneethanol과 herb향을 가진 trans-calamenene은 고칼로리 한식음료 시료에서만 동정되었다.

Ester류는 yeast 등의 미생물에 의한 효소 enzymatic 반응으로 주로 생성된다 (Reineccius, 2006). 지방 대사로 여러 종류의 alcohols와 acids가 에스테르화하여 다양한 종류의 ester를 만든다 (Reineccius, 2006). 열처리가 된 고칼로리 시료에서 대체적으로 ester류의 함량이 감소하였는데, 짧은-체인 ester류는 끓는점이 낮아 열처리 시 손실되었을 것이라 추정한다 (Fan and Quin, 2006). 또한, 열처리에 의해 이들의 가수분해 반응도 촉진된 수 있었을 것으로 사료된다. Sweet-fruity한 향을 지닌 isobutyl butanoate의 함량이 예외적으로 증가하였고, Ana 등 (2007)

의 중간-체인 ester류는 효소 활성의 강화로 인해 증가한다는 연구 결과와 일치한다.

1-Butanol은 열처리 시료에서 유의적으로 증가하였는데, 이는 1-butanol과 acetic acid에 의해 에스테르화에 의해 butyl acetate가 생성되지만 butyl acetate는 열처리 시료에서 유의적으로 감소하여 에스테르화가 활발히 이루어지지 않은 것으로 사료된다.

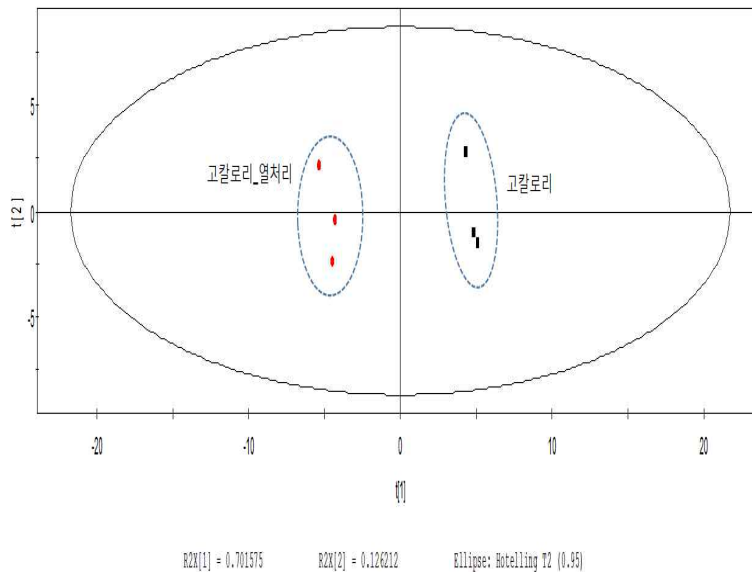


그림 50. 고칼로리 한식음료 시료간의 휘발성 향미성분 PLS-DA 기반 score plot

표 47. 고칼로리 한식음료 시료간의 휘발성 향미성분 정량

	고칼로리	고칼로리 열처리
Alcohols		
Benzeneethanol	0.0011±0.0004a	-
1-Butanol	0.0903±0.0029a	0.1271±0.0055b
1-Decanol	0.0021±0.0003a	0.0008±0.0002b
1-Hexanol	0.8486±0.0141a	0.7794±0.0175b
Isopentyl alcohol	0.4323±0.0223a	0.0952±0.0036b
Isopropenylethyl alcohol	0.0118±0.0004a	0.0078±0.0005b
Cabonyls		
Acetoin	0.5803±0.0184a	0.4693±0.0071b
Methyl heptenone	0.0057±0.0008a	0.0037±0.0003b
Esters		
Butyl acetate	9.4194±0.3001a	8.0088±0.1562b
Ethyl acetate	4.0209±0.2084a	3.2511±0.0705b
Ethyl butyrate	2.3718±0.0917a	2.0730±0.0406b
Ethyl 2-methylbutyrate	3.4879±0.1403a	3.1243±0.0748b
Hexyl acetate1	1.4801±0.1103a	1.2568±0.0154b

Hexyl acetate ²	1.4662±0.0893a	1.3622±0.0353b
Isoamyl acetate ¹	3.0890±0.0531a	2.6380±0.0396b
Isoamyl acetate ²	0.6407±0.0473a	0.5549±0.0403b
Isobutyl butanoate ¹	0.4629±0.0390a	0.5618±0.0335b
Isobutyl acetate	0.8631±0.0529a	0.7433±0.0206b
Hydrocarbons		
cis-Carane	0.1373±0.0149a	0.0715±0.0174b
Terpenes&Terpenoids		
Alloaromadendrene	0.0078±0.0016a	0.0014±0.0009b
ar-Curcumene	0.0124±0.0015a	0.0017±0.0006b
trans-Calamenene	0.0018±0.0004a	-
α-Cedrene	0.0101±0.0029a	0.0016±0.0001b
1,8-Cineole	0.2958±0.0183a	0.1995±0.0065b
Isoborneol	0.0243±0.0008a	0.0219±0.0014b

* p<0.05, Duncan's multiple range test

저칼로리 한식음료 시료간의 차이를 보기 위해 PLS-DA를 실시한 결과, PLS 1 (55.19%)를 기준으로 양의 방향에 저칼로리 한식음료 시료가, 음의 방향에는 열처리한 시료와 저칼로리 초고압처리한 시료가 분리되었다 (그림 51). 이 때, PLS-DA 기반 VIP value를 0.9 이상으로 설정한 loading plot 결과, 저칼로리 시료 분리에 기여한 물질은 alloaromadendren, ar-curcumene, α-cedrene, (-)-α-pinene, 1,8-cineole, acetic acid, dl-limonene, 1-propanol, isopentyl alcohol, isobutyl alcohol, camphene, isoborneol, ethyl acetate, camphor, (-)-β-pinene, delta-3-carene, ocimene, unknown 3이고, 열처리한 시료와 초고압처리를 한 시료에는 isovaleraldehyde, isobutyraldehyde, dimethyl disulfide, R(+)-limonene의 함량이 많았다. 대체적으로 저칼로리 한식음료의 시료에서 동정된 물질들이 가장 높은 함량을 보이고, 열처리가 된 시료에서 함량이 가장 적게 정량된 것을 볼 수 있었으며, 전반적으로 보았을 때 초고압처리한 시료가 저칼로리 시료에 더 비슷한 것을 알 수 있다. Woody 향을 가진 alloaromadendrene은 저칼로리 한식음료, 저칼로리 한식음료를 열처리한 시료, 초고압처리한 시료 순으로 함량이 감소했다.

Isobutyraldehyde와 isovaleraldehyde는 valine과 leucine synthesis를 통해 생성되고, isobutanol과 isoamyl alcohol은 각각 aldehyde로부터 생성된다 (Peterson, 2004). Aldehyde류는 저칼로리 한식음료를 열처리한 시료에서 가장 함량이 높았고, alcohol류는 가장 낮았다.

McGraw (1999)에 의하면 limonene은 열을 가했을 때 oxidize된다. dl-limonene의 경우, 열처리 시료에서 함량이 가장 낮아졌지만 R(+)-limonene은 저칼로리 한식음료를 열처리한 시료에서 가장 함량이 높았다.

Dimethyl disulfide는 cystein이나 methione이 열분해되어 생성되는 물질로 알려져 있는데 (Carunchia, 2005; Bendall, 2011), 본 연구에서도 역시, 저칼로리 열처리한 시료에서도 함량이 가장 높았다.

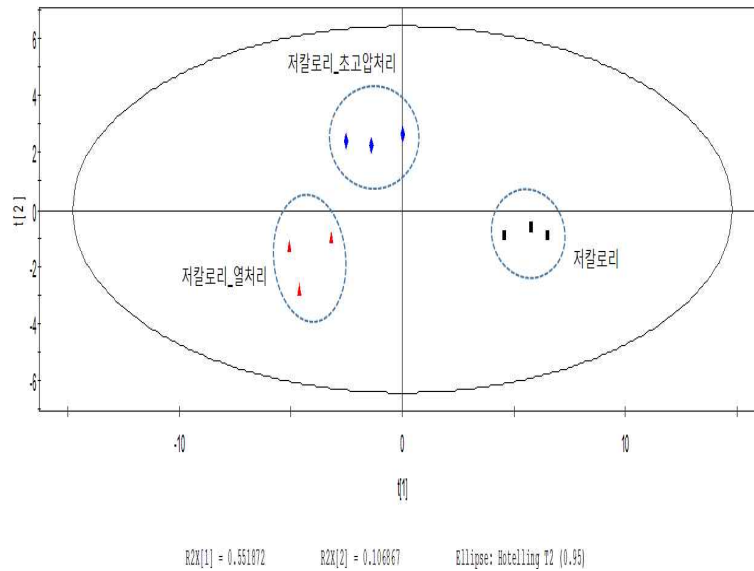


그림 51. 저칼로리 한식음료 시료간의 휘발성 향미성분 PLS-DA 기반 score plot

표 48. 저칼로리 한식음료 시료간의 휘발성 향미성분 정량

	저칼로리	저칼로리 열처리	저칼로리 초고압처리
Acids			
Acetic acid	1.8992±0.1075a	1.3800±0.2268b	1.5159±0.0657b
Alcohols			
Isobutyl alcohol	0.3176±0.0252a	0.1639±0.0559b	0.2202±0.0848b
Isopentyl alcohol	1.2376±0.2467a	0.7502±0.2980b	0.7551±0.3082b
1-propanol	0.0271±0.0009a	0.0128±0.0057b	0.0200±0.0089ab
Aldehydes			
Isobutyraldehyde	0.1199±0.0233a	0.2360±0.0263b	0.2018±0.0585b
Isovaleraldehyde	0.0225±0.0048a	0.1898±0.0405b	0.0761±0.0174c
Benzene&Benzene derivatives			
Cymene	0.0114±0.0014a	0.0085±0.0016b	0.0088±0.0018b
Esters			
Ethyl acetate	0.5611±0.0405a	0.2726±0.0139b	0.2848±0.0240b
Sulfur-containing compounds			
Dimethyl disulfide	0.0076±0.0017a	0.0196±0.0031b	0.0087±0.0014a
Terpenes&Terpenoids			
Alloaromadendrene	0.0059±0.0004a	0.0028±0.0003b	0.0023±0.0006b
(-)-α-pinene	0.0406±0.0120a	0.0080±0.0007b	0.0100±0.0010b
(-)-β-pinene	0.0290±0.0013a	0.0222±0.0009c	0.0251±0.0014b
Camphene	0.0313±0.0036a	0.0184±0.0015c	0.0221±0.0013b
Camphor	0.0755±0.0038a	0.0543±0.0014c	0.0629±0.0007b
ar-Curcumene	0.0114±0.0003a	0.0042±0.0014b	0.0037±0.0011b

α -cedrene	0.0082±0.0008a	0.0027±0.0005b	0.0028±0.0017b
dl-limonene	0.1630±0.0443a	0.0678±0.0020b	0.0708±0.0071b
R(+)-Limonen	0.0126±0.0003a	0.0164±0.0006b	0.0133±0.0010a
1,8-cineole	0.4479±0.0292a	0.2793±0.0187c	0.3146±0.0082b
Delta-3-carene	0.2250±0.0129a	0.1947±0.0271b	0.2248±0.0159a
Isoborneol	0.0379±0.0007a	0.0309±0.0013b	0.0369±0.0017a
Ocimene	0.0050±0.0004a	0.0042±0.0004b	0.0051±0.0009a
Miscellaneous			
Unknown3	0.0058±0.0003a	0.0048±0.0002c	0.0051±0.0002b

* $p < 0.05$, Duncan's multiple range test

저칼로리 한식음료의 처리 방법별 시료의 차이를 보기 위해 PLS-DA를 실시한 결과, PLS 1 (37.29%)를 기준으로 양의 방향에 저칼로리 한식음료를 열처리한 시료가, 음의 방향에는 저칼로리 한식음료를 초고압처리한 시료가 있음을 볼 수 있었다 (그림 52). 이 때, PLS-DA 기반 VIP value 0.9 이상으로 유의적인 차이가 있는 물질들은 isovaleraldehyde, dimethyl disulfide, 1,8-cineole, R(+)-limonene, camphene, isoborneol, camphor, (-)- β -pinene, delta-3-carene, ocimene, unknown3로 표 52와 같았다.

Citrus flavored 음료에서 terpene류는 acid catalyzed 분열을 주로 하여 이취로 바뀌기도 하고 (Reineccius, 2006), 열에 의해 변성되기도 한다 (McGraw, 1999). 저칼로리 한식음료를 초고압처리한 시료에서 대부분의 terpene류는 더 많은 함량을 보였다. 반면 pungent하면서 cheesy-sweaty-cocoa fruity한 향의 isovaleraldehyde, onion 같은 향의 dimethyl disulfide, 그리고 fresh, sweet, orange citrus 향의 R(+)-limonene는 저칼로리 한식음료를 열처리한 시료에서 더 높은 함량을 나타냈다.

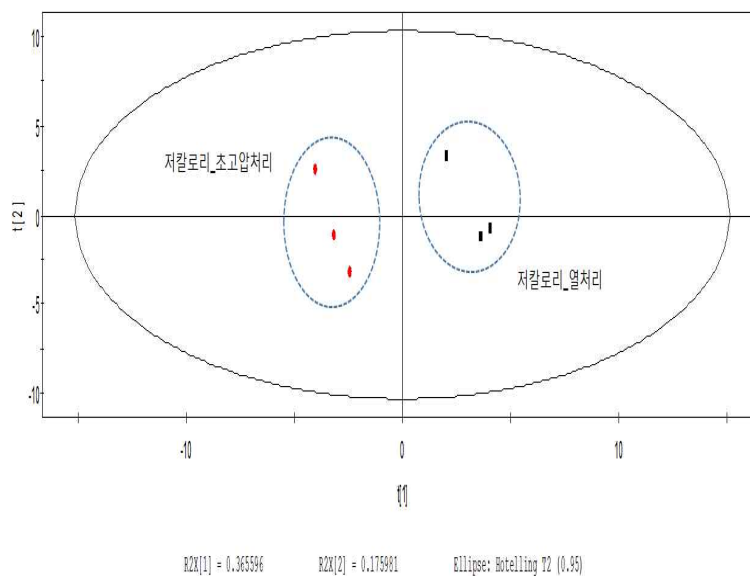


그림 52. 저칼로리 한식음료를 초고압처리와 열처리한 시료간의 휘발성 향미성분 PLS-DA 기반 score plot

표 49. 저칼로리 한식음료를 초고압처리와 열처리한 시료간의 휘발성 향미성분 정량

	저칼로리 열처리	저칼로리 초고압처리
Aldehydes		
Isovaleraldehyde	0.1898±0.0405a	0.0761±0.0174b
Sulfur-containing compounds		
Dimethyl disulfide	0.0196±0.0031a	0.0087±0.0014b
Terpenes&Terpenoids		
(-)-β-pinene	0.0222±0.0009a	0.0251±0.0014b
Camphene	0.0184±0.0015a	0.0221±0.0013b
Camphor	0.0543±0.0014a	0.0629±0.0007b
R(+)-Limonen	0.0164±0.0006a	0.0133±0.0010b
1,8-cineole	0.2793±0.0187a	0.3146±0.0082b
Delta-3-carene	0.1947±0.0271a	0.2248±0.0159b
Isoborneol	0.0309±0.0013a	0.0369±0.0017b
Ocimene	0.0042±0.0004a	0.0051±0.0009b
Miscellaneous		
Unknown3	0.0048±0.0002a	0.0051±0.0002b

* p<0.05, Duncan's multiple range test

8. 최종prototype 국내 소비자 조사

가. 조사날짜 : 2014. 07.09(수) 14:00~16:00

나. 조사방법 : Gang Test / Sequential Monadic / Balance Presentation

다. 조사대상자 : 미취학 아동 및 초등학교 저학년 자녀가 있는 샘플패널 42명

라. 조사목적 : 검토중인 현미유산균발효음료(한식음료)로 진행 중인 2가지 타입에 대한 소비자 반응을 살펴보고 개선방향을 도출하고자 함.

마. 조사내용 : 현미유산균 발효물 2가지 타입에 대한 설명을 정리하여 컨셉으로 삽입 후 각 타입은 종이컵에 100mL씩, 냉장고에서 바로 꺼내어 차가운 상태로 제공 하였으며 이때 현미발효물 이 40%타입은 난수표 351로 제시하고, 70% 타입은 795로 제시하였다. 샘플 주부패널은 각 그룹으로 나누어 개별적으로 시식 후 설문지에 체크하도록 진행하였으며 먼저 먹은 제품에 따라결과가 달라질 수 있으므로 그룹별로 먼저 먹는 제품을 달리 진행하였다.(351을 처음에 먹는그룹, 795를 처음에 먹는 그룹)



그림 53. 난수표로 제공된 한식음료



그림 54. 각 그룹별로 한식음료 설문에 응답하는 주부패널

바. 조사결과

-전반적 만족도는 현미유산균발효물 함량이 높은 70% 타입이 6.8점(9점척도/top2 70%), 현미 유산균 발효물이 함량 40% 타입이 5.6점(9점척도/top2 50%)으로 현미 유산균발효물 함량이 높은 70% 타입이 유의적으로 더 높게 평가되었다.

-현미유산균 발효물이 낮은 타입의 경우 높은 타입에 비해 ‘맛있다’, ‘특징적인 맛이 없다’, ‘뭉다’, 등 전반적으로 맛이 약하다는 불만이 다수 언급된 반면 현미유산균 발효물이 높은 타입은 ‘텃텃하다는’ 의견이 많았다.

-미취학 및 초등학교 저학년 자녀를 고려했을 했을 때도 칼로리 높은 타입(6.8/top4 70%) 낮은 타입 (5.6/top4 50%)보다 유의적으로 높게 평가 되었는데 , 칼로리 높은 타입도 본인평가때 (6.8)보다 기호도가 떨어졌는데 ‘아이들이 잘 먹지 않을 것 같은 맛’이라는 반응을 보였다.

-유사하게 느끼는 제품으로는 아침햇살, 유산균 음료 등이 언급되었다.

-조사결론은 칼로리가 낮은 요소보다 맛 측면의 영향을 더 많이 받아, 칼로리가 높은 타입에 대한 반응이 좋았으며, 칼로리가 높은 타입에서도 텃텃하다는 불만이 있어 차후 상품화 진행시 이부분에 대한 개선이 적용되어야 할 것으로 보였다.

표 50. 타입별 전반적 만족도 응답점수 및 응답비율 (9점척도, N=42)

구분	전반적 만족도	응답비율(%)								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
		매우좋지않음, 좋지않음, 좋지않은편			보통임			좋은편, 좋음, 매우좋음		
칼로리 낮은 타입	5.4b	7	2	17	12	12	14	29	2	5
칼로리 높은 타입	6.8a			2	7	12	14	45	12	7
	0.00									

표 51. 타입별 자녀 고려시 기호도 및 응답비율 (9점척도, N=42)

구분	전반적 만족도	응답비율(%)								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
		매우좋지않음, 좋지않음, 좋지않은편			보통임			좋은편, 좋음, 매우좋음		
칼로리 낮은 타입	5.0b	5	7	17	19	19	19	12	3	
칼로리 높은 타입	6.1a		5	12	5	24	19	17	10	10
	0.00									

표 52. 칼로리 낮은 타입 한식음료에 대한 소비자 의견(N=42, 중복응답)

만족이유		불만족이유	
맛	28	맛	52
단맛이 강하지 않다	8	밋밋하다	12
깔끔하다	7	특징적인 맛이 없다	8
부드럽다	5	텃텃하다	6
신맛이 강하지 않다	2	싱겁다	4
개운하다	2	단맛이 부족하다	3
상큼하다	2	신맛이 부족하다	3
현미의 맛이 난다	1	맛없다	3
텃텃하지 않다	1	물탄 막걸리 같다	2
컨셉	27	신맛이 강하다	2
칼로리가 낮다	7	인공적인 향미가 난다	2
현미를 발효했다	5	쌀뜨물 같다	2
인공 첨가물이 없다	5	유산균 맛이 부족하다	2
식이섬유가 풍부하다	5	현미의 구수함이 부족	1
액상과당, 설탕 무첨가	3	뽀은 맛이 난다	1
건강음료다	2	썩은 맛이 난다	1
향이 좋다	3	퍽다	6
오렌지 향이 좋다	2	향이 별로다	5
		색이 별로다	2

표 53. 칼로리 높은 타입에 대한 소비자 의견 (N=42, 중복응답)

만족이유		불만족이유	
맛	43	맛	24
단맛이 강하지 않다	10	텃텃하다	11
깔끔하다	7	신맛이 강하다	5
유산균 음료 맛이 난다	7	밋밋하다	1
현미의 맛이 난다	6	신맛이 부족하다	1
부드럽다	5	단맛이 강하다	1
신맛이 강하지 않다	3	상큼함이 부족하다	1
새콤달콤하다	2	현미의 구수함이 부족	1
개운하다	2	뽀은 맛이 난다	1
텃텃하지 않다	1	썩은 맛이 난다	1
컨셉	29	쓴맛이 난다	1
인공 첨가물이 없다	11	색이 별로다	4
액상과당, 설탕 무첨가	9	향이 별로다	3
현미를 발효했다	6	칼로리가 높다	1
건강음료다	2	물탄 막걸리 같다	1
식이섬유가 풍부하다	1		
청포도, 사과 향이 난다	2		
향이 좋다	2		
발효음료 같다	2		
전통음료 같다	1		

표 54. 제품 시식 후 한식음료와 유사하게 느끼는 음료 (중복응답, N=42)

칼로리 낮은 타입	응답자	칼로리 높은 타입	응답자
아침햇살	10	유산균음료	13
이온음료(포카리스웨트)	5	요구르트	4
식혜	2	비피더스	2
요구르트	2	이오	2
마시는 세븐	1	사과맛요구르트	1
음용식초(홍초,백년동안)	1	액티비아	1
하늘보리	1	담터 유산균 음료	1
아침에주스	1	플레인 요구르트	1
		남양 요구르트	1
		아침햇살	7
		음용식초(홍초,백년동안)	2
		사과주스	2
		사과음료	1
		이온음료(포카리스웨트)	1
		하늘보리	1
		쿨피스	1
		청포도주스	1

9. 제품의 이화학적 성분 및 영양성분 분석 결과

소비자 테스트를 진행한 두제품에 대한 이화학, 영양성분 분석을 진행하였다. 제품별 이화학분석 결과는 표 55와 같고 영양성분을 분석한 결과, 현미발효물 40%는 100g당 40kcal, 현미발효물 70%는 100g당 72kcal 로 나타났다. 현미발효물 40%로 이루어진 한식음료의 경우는 시중 음료보다 낮은 칼로리인 40kcal로 낮은 칼로리로 나타났으나, 소비자 조사에서는 칼로리적인 측면보다는 맛적인 측면이 더 중요한 부분으로 인식되었으므로 차후 상품화 과정에서 칼로리 측면보다는 맛적인 측면을 더욱 강화해야 할 것으로 보인다.

또한 각 유기산은 대부분 Lactic acid이며, 유리당은 fructose, sucrose, maltose, glucose 로 분석되었으며 그 수치는 표 58. 과 같다.

표 55. 타입별 이화학 분석 결과

	Glucose(%)	pH	산도 (lactic acid)	수분함량	brix
현미발효물40%	6.46	3.73	0.23	90.01	11.8
현미발효물70%	11.0	3.65	0.33	82.39	17.8

표 56. 타입별 영양성분 분석 결과

	조지방(%)	수분(%)	회분(%)	조단백(%)	나트륨(mg)	식이섬유(g)
현미발효물40%	0.04	90.0	0	0.375	270mg	3.2g
현미발효물70%	0.09	82.39	0	0.631	270mg	3.2g

- 칼로리 낮은 타입(식품위생법, 식품의 표시기준에 따름)

영양성분 100g당 함량 100g당 함량 : 열량 40kcal, 탄수화물10g(3%) 식이섬유 3g(12%)·당류 7g, 단백질 0g(0%), 지방 0g(0%) 포화지방 0g(0%)·트랜스지방 0g, 콜레스테롤 0mg(0%), 나트륨 270mg(14%) ()안의 수치는 1일 영양소기준치에 대한 비율임

- 칼로리 높은 타입(식품위생법, 식품의 표시기준에 따름)

영양성분 100g당 함량 100g당 함량 : 열량 72kcal, 탄수화물 17g(5%) 식이섬유 3g(12%)·당류 12g, 단백질 1g(2%), 지방 0g(0%) 포화지방 0g(0%)·트랜스지방 0g, 콜레스테롤 0mg(0%), 나트륨 270mg(14%) ()안의 수치는 1일 영양소기준치에 대한 비율임

표 57. 각 타입별 유기산 함량 (단위 : mg/kg)

제품타입	칼로리 낮은 타입 한식음료	칼로리 높은 타입 한식음료
Citric acid	0.00	0.00
Tartaric acid	0.00	0.00
Malic acid	0.00	0.00
Succinic acid	0.00	0.00
Lactic acid	2189.55	3219.13
Acetic acid	0.00	0.00
Levulinic acid	0.00	0.00
Pyroglutamic acid	0.00	0.00
합계	2189.55	3219.13

표58. 각 타입별 유리당 함량 (단위 : mg/kg)

제품명	칼로리 낮은 타입 한식음료	칼로리 높은 타입 한식음료
fructose	1785.06	2592.15
glucose	50322.65	84099.95
sucrose	2457.66	2442.95
lactose	0.00	0.00
maltose	4851.83	8374.25
합계	59417.20	97509.30

제 3 절 Hurdle 기술을 이용한 품질 안정화 기술

1. 재료 및 방법

본 연구에서는 주관기관인 샘표 우리발효중심에서 장 건강 증진용 현미·채소발효 소재와 그를 응용한 한식음료타입 제품개발 연구에서 야채음료의 품질 안정화 기술 개발 및 미국인 선호형 음료 특성을 평가하고자 하였다.

가. pH 및 적정 산도

pH는 액체상태의 시료에 pH electrode를 직접 넣어 측정하였다. 적정산도는 시료 약 1ml을 정확히 달아 적당히 희석 (100ml) 하여 여과한 여과액 (Toyo No. 1) 20ml에 0.01N NaOH 용액으로 pH가 8.3이 될 때까지 적정하여 소비된 0.01N NaOH 용액 소비량을 구한 후 다음의 식으로 계산하였다.

$$\text{산도}(\%) = \frac{\text{소비된 NaOH (ml)} \times 0.0009 \times \text{NaOH factor} \times 5 \times \text{희석부피 (ml)}}{\text{시료량 (g 또는 ml)}}$$

나. 염도

액체상태의 시료 1 ml를 100배 희석한 후 10 ml를 취하여 2% potassium chromate 1 ml를 넣어 0.02N AgNO₃으로 적정하여 아래의 식을 이용하여 계산하였다. 이때 단위는 % (w/v) 이다.

$$\text{염도}(\%) = \frac{\text{소비된 AgNO}_3 \text{ (ml)} \times 0.00117 \times \text{AgNO}_3 \text{ factor} \times 10 \times \text{희석부피 (ml)}}{\text{시료 채취량 (g 또는 ml)}}$$

다. 유기산

액체상태의 시료를 0.45um membrane filter로 여과한 다음 HPLC(Jasco, Japan)에 20ul를 주입하여 분석하였다.(표 1) standard 물질로는 oxalic acid, malonic acid, acetic acid, tartaric acid, lactic acid, succinic acid, malic acid, fumaric acid 및 citric acid를 사용하였다.

표 1. 유기산 HPLC 분석조건

Items	Conditions
Column	Aminex HPX-87H(300x7.8mm)
Elution	0.008N H ₂ SO ₄
Flow rate	0.6ml/min
Detector	UV(210nm)
Oven temperature	50℃

라. 유리당

액체상태의 시료를 0.45um membrane filter로 여과한 다음 HPLC(Jasco, Japan)에 20ul를 주입하여 분석하였다.(표 2) tandard 물질로는 fructose, mannitol, glucose, sucrose 및 maltose를 사용하였다.

표 2. 유기산의 HPLC 분석조건

Items	Conditions
Column	Polyamine II (250x4.6mm)
Elution	Acetonitrile:water=75:25
Flow rate	1.0ml/min
Detector	RI
Oven temperature	26℃

마. Joule 가열

Batch식 Joule 가열장비(ohmic heater, Frontier engineering, Japan)를 이용하여 살균 시험을 행하였다. Joule가열 장치는 출력전압 100~400 V 까지 조절할 수 있으며, 주파수는 20kHz의 고정형의 것을 사용하였다. 음료 1L을 20cm x 20cm x 20cm 규격의 chamber에 채우고 온도를 설정하고 가열을 실시한 다음 100℃에 도달 후 시료를 채취하고 그대로 PE 필름에 포장하여 얼음물에서 급냉시켰다.

바. 초고압처리

진공 포장된 음료 시료를 hydrostatic fluid medium으로 채워진 고압기(Quintus foodprocessor 6; ABB Autoclave System, Inc., USA)의 chamber에 넣고 350-550 MPa 압력으로 5-30분간 처리 하였으며 이 때 chamber의 온도는 15±3℃ 였다.

사. 초음파처리

초음파 장비는 20 kHz의 고정형(VCX 750, 20kHz, Sonic and Material Inc)를 이용하였고 20kHz, 80% amplitude, 25℃에서 1시간 동안 처리하였다.

아. 총균수

시료를 10진 희석법으로 희석한 후 각 샘플을 1 mL를 취하여, PCA(plate count agar) 배지(Difco, USA)를 이용하여 pour plate counting method로 30℃에서 48시간 배양하여 계수하였다.

자. 젖산균

MRS(*Lactobacilli* MRS agar, Difco)배지에 BCP (bromocresol purple) 지시약을 25ppm되게 넣어 제조한 배지를 사용하여 단계별로 희석한 시료를 접종한 후 pouring culture method로 30℃에서 48시간 배양하고 총 colony와 yellow 발색 반응을 나타낸 colony(유기산 생산균)를 계수하였다.

차. 효모 및 곰팡이

시료를 10진 희석법으로 희석한 후 각 샘플을 1 mL를 취하여, PDA 배지(Difco, USA)를 이용하여 pour plate counting method로 30℃에서 48시간 배양하여 계수하였다.

카. 색도

소스류를 투명 진공포장지에 넣어 밀봉한 후 색차계(Model CR-300, Minolta, Japan)를 이용하여 Hunter scale에 의해 L(명도), a(적색도), b(황색도)값으로 나타내었다.

2. 야채음료의 품질 안정화 기술

1) 시판 음료제품의 주요 구성재료 특성 조사

현미 및 무 발효물을 이용한 음료개발에 참고를 위해 국내외 주요 음료제품 50여 종을 선별하여 구성재료의 종류와 사용빈도를 조사하였다.(그림 1 및 표 3)

표 3과 같이 음료상품의 주요 재료는 사용빈도의 순으로 볼 때 정제수, 합성착향료, 과일농축액, 구연산, 백설탕, 비타민 C, 액상과당, 식용색소, 이산화탄소, 구연산나트륨 추출물 및 정제소금의 순으로 많이 사용하고 있는 것으로 나타났다.

여기서 음료의 85%에는 향의 강화를 위해 합성 착향료가 사용되고 있어 인공향료가 음료에서 차지하는 비중이 매우 큼을 알 수 있었다.

구연산(69%) 및 구연산나트륨(24%)은 신맛의 부여에 주로 이용된 것으로 파악되었고 항산화 효과를 목적으로 비타민 C의 첨가 빈도가 44%에 달하는 것으로 나타났다. 단맛과 칼로리 측면에서는 백설탕과 액상과당의 사용빈도가 각각 48% 및 35%로 비중있게 사용되고 있음을 알 수 있었다.

음료의 청량감 부여와 관련하여 음료에 탄산 첨가 빈도가 28%로 낮게 나타났는데 탄산미는 음료에 있어 매우 큰 비중을 차지하지만 본 연구에서는 사이다나 콜라 등과 같은 청량음료와는 성격이 다른 과일이나 야채음료 형태의 상품에 대한 자료수집을 전제로 조사되었기 때문으로 생각된다.



그림 1. 시판 탄산음료, 쌀음료, 과일음료 예시(외국제품 포함)

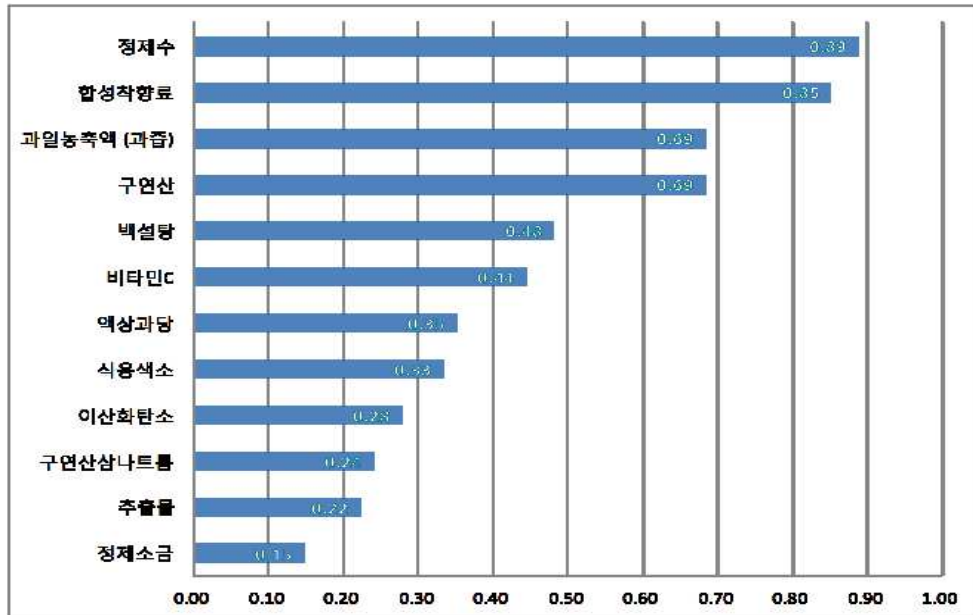


그림 2. 시판 음료제품의 재료 종류별 사용빈도

2) 발효물의 기초특성 평가

주관기관에서 제공한 현미발효물과 무발효물(젖산균발효, 생표식품)의 기초특성을 분석하여 그 결과를 그림 3 및 표 4에 나타내었다.(제조방법 및 공정은 주관기관 보고서 참조)

현미발효물은 갈색을 나타내었고 pH 3.30, 적정산도 1.04%로 높은 산성도를 보였고 염도는 0.12%로 매우 낮고 당도는 6.77%로 높은 편이었으며 젖산균수는 7.98 log로 매우 높은 수준을 나타내었다.

한편 무발효물은 회백색을 나타내었고 pH 3.47 및 적정산도 0.98%로 산성도가 높았으며 염도와 당도는 각각 2.42% 및 5.9%로 높은 편이었고 젖산균수는 7.7 log로 현미발효물과 같은 높은 수준을 나타내었다.

상기 현미와 무발효물 시료는 모두 pH, 산도 및 젖산균수에서 유사하였지만 당도에서는 현미발효물이 무발효물 보다 약간 높았고 염도에서는 무발효물이 현미발효물보다 높은 점이 주목되었다.



그림 3. 주관기관(샘표)에서 제공한 현미 및 무발효물

표 3. 현미 및 무발효물의 기초특성

	pH	적정산도 (%)	염도(%)	당도(brix)	젖산균 (cfu/ml)
현미발효물	3.30	1.04	0.12	6.77	7.98
무발효물	3.47	0.98	2.42	5.90	7.70

3) 현미 및 무발효물의 풍미 성분 분석

본 연구에서는 현미 및 무발효물과 대표적인 음료상품을 대상으로 음료의 주요 맛 성분으로 알려진 유기산과 유리당 성분에 대해 분석하였다.

표 4에는 유기산 성분의 분석 결과를 나타내었다. 현미발효물은 젖산 성분만이 검출되었고 함량은 0.63%로 나타났다. 무발효물의 경우에는 젖산, 초산 및 구연산 성분이 검출되었고 젖산 함량은 0.37%로서 구성 유기산 중 가장 많았으며 그 다음으로 초산 성분이 0.15%, 구연산 성분은 0.03%로 낮은 함량을 보였다.

상기의 현미 및 무발효물에 대한 유기산 분석에서 젖산 성분의 함량이 높게 나타난 것은 젖산발효물의 특성을 반영한 것으로 평가되며 젖산균과 함께 초산 및 구연산 성분이 생성된 무발효물의 경우에는 현미발효와 다른 발효 특성에서 비롯된 것으로 보인다.

한편 시판 과일 혹은 야채음료상품에서는 citric, malonic 및 oxalic산의 검출 빈도가 높았는데 이는 음료에 인공적으로 첨가된 구연산 성분 외에 과일 등에서 비롯된 유기산류가 함유되었기 때문으로 생각된다.

표 4에는 유리당 성분의 분석 결과를 나타낸 것이다. 현미발효물은 glucose 성분이 유일하게 검출되고 함량은 8.3%로 나타났다. 무발효물의 경우에는 mannitol 성분이 유일하게 검출되고 함량은 0.98%로 나타나 현미발효물과 무발효물의 구성 유리당 성분 간에 차이를 보였다.

한편 시판 과일 혹은 야채음료상품에서는 glucose 외에 fructose 및 sucrose가 검출되고 함량

도 높았는데 분석된 유리당 성분 역시 과일 등에서 비롯된 것들이 함유되었기 때문으로 생각된다.

상기 분석결과를 통하여 현미 및 무발효물은 유기산 및 유리당의 조성에서 시판 음료의 그것과 대조를 보이고 있어 새로운 풍미의 젓산발효 음료로서 응용이 기대된다.

표 4. 발효물 및 음료상품의 유기산 조성

단위 : %

시료	Organic acids					
	lactic	citric	acetic	tartaric	malonic	oxalic
현미 발효물	0.63	-	-	-	-	-
무 발효물	0.37	0.03	0.15	-	-	-
Rm	-	0.63	-	-	0.22	0.02
Ss	-	0.72	-	-	0.17	0.02
Ap	-	0.04	-	0.01	0.77	-
Jo	-	1.05	-	-	0.14	0.02
Gi-1	-	0.17	-	-	0.05	0.02
Gi-2	-	0.11	-	0.03	0.52	-
Gd	-	0.55	-	-	-	0.02

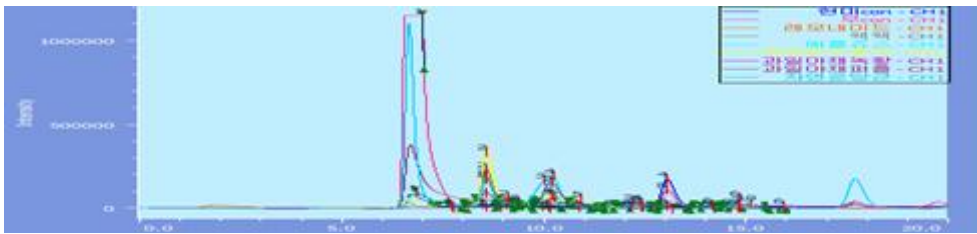


그림 4. 발효물 및 음료상품의 유기산 HPLC 프로파일

표 5. 발효물 및 음료상품의 유리당

단위 : %

시료	free sugars			
	fructose	mannitol	glucose	sucrose
현미발효물	-	-	8.33	-
무발효물	-	0.98	-	-
Rm	4.89	-	8.53	1.12
Ss	3.85	-	4.59	1.19
Ap	9.01	-	5.64	1.11
Jo	3.00	-	4.83	6.49
Gi-1	2.43	-	2.97	4.06
Gi-2	5.39	-	7.06	0.91
Gd	1.19	-	1.91	6.76

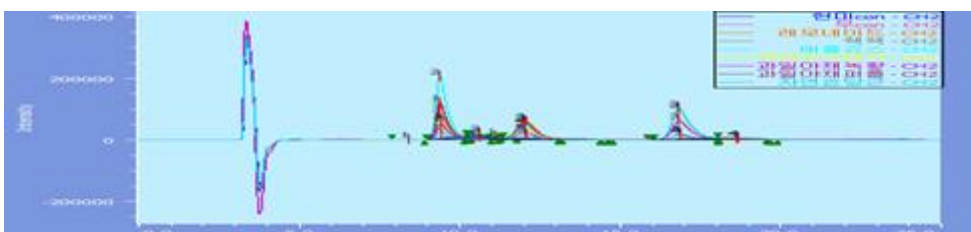


그림 5. 발효물 및 음료상품의 유리당 HPLC profile

4) 발효물에 대한 기호도 평가 및 품질인자 도출

현미 및 무발효물에 대한 국내 외국인 기호도 평가 및 중요 품질인자 도출을 위하여 전문패널 10인을 대상으로 FGI(focus group interview)를 실시, 묘사분석을 행하고 발효물에 대해 향, 맛, 텍스처 및 후미에 대한 묘사속성들을 도출하여 그 결과를 표 6에 나타내었다.

도출된 다양한 묘사속성 중에서 향의 경우 현미발효물은 미숫가루, 고소함, 구수함이 무발효물은 상큼함, 발효취 등이 주요 속성이었으며 맛에서는 현미발효물은 볶음맛, 고소한맛 무발효물은 상큼한맛, 감칠맛, 짠맛 등이 주요 속성으로 판단되었다. 한편 텍스처의 경우 현미발효물은 농후함이 무발효물은 상큼함이 주요 속성으로 도출되었다.

본 연구에서는 상기와 같이 현미 및 무발효물에 대해 도출된 주요 관능속성을 토대로 발효물 혹은 이를 이용하여 제조한 음료시료의 특성을 결정지을 수 있는 관능적 품질인자를 도출하여 관능평가에 적용하였다.

표 7에는 현미 및 발효물에 대한 내국인의 관능평가 결과를 나타낸 것이다. 현미는 9점 척도법에서 색상과 외관이 각각 6.73 및 6.55로 가장 높은 점수를 보였고 현미맛/전반적인 맛 및 목넘김이 각각 5.73 및 5.91로 비교적 우수하였으며 전반적인 기호도에서는 5.64점의 보통수준으로 나타났다. 무발효물의 경우 색상과 상큼한 냄새가 각각 6.4점 및 6.0점으로 다른 속성에 비해 높았으나 전체기호도에서는 4.27점으로 보통 이하를 나타내었다.

한편 속성별 강도(intensity) 평가에서는 현미 및 무발효물 모두 단맛이 약하고 신맛이 강한 측면이 공통적으로 나타나고 있으나 무발효물이 현미발효물 보다 신맛이 다소 강하게 나타나 무발효물의 기호도가 현미 발효물보다 상대적으로 낮게 나타난 것으로 파악된다.

표 6. 현미 및 무발효물의 묘사 속성 도출 결과

속성	현미발효물	무발효물
향	볶음향, 미숫가루향, 견과류(아몬드), 콩, 단내, 베지밀, 청량감, 과실향, 로스팅(roasting), 단내(burned), 고소한향, 케케함(지푸라기), 구수함(승냥)	무냄새, 마늘냄새, 매운향, 신냄새, 이스트향, 상큼한향, 짠내, 김치냄새, 발효취, 고추향, 군덕내, 과냄새, 쪄냄새
맛	볶음맛, 미숫가루맛, 아몬드맛, 두유맛, 단맛, 화한맛, 쓴맛, 짭은맛, 신맛, 고소한맛, 감칠맛, 탄산미	마늘맛, 매운맛, 신맛, 감칠맛, MSG맛, 탄산미, 쓴맛, 짠맛, 소금맛, 무맛, 상큼한맛, 짭조름한맛, 군덕맛, 단맛, 탄산맛, 인공적인맛
텍스처	텃텃한 맛 (mouth coat), 기름기의, 걸쭉한, 농후함, 물흐르듯(watery), 부드러운	뽀은맛, 텃텃한맛, 미끈한맛, 뽀은맛, 상큼함, 물흐르듯(watery)
후미	쌀맛, 견과류맛, 신맛, 볶음맛, 단맛, 인화성 물질맛	쓴맛, 짠맛, 매운맛, 느끼한맛
외관	갈색, 윤기, 투명도, 입자감 등	회색, 윤기, 투명도, 입자감 등

표 7. 발효물에 대한 관능평가

속 성	현미발효물		무발효물	
	특성강도	기호도	특성강도	기호도
색상	5.35±0.98	6.73±1.01	5.45±1.29	6.45±1.13
외관	4.83±1.29	6.55±1.13	5.73±1.19	5.09±1.76
상큼한내	4.73±2.15	4.82±1.89	6.73±0.09	6.00±1.55
현미냄새	5.42±1.69	5.45±1.75	6.27±1.19	5.36±1.69
발효취	6.10±0.98	3.45±1.13	6.27±1.19	4.91±1.64
전반적인향	6.13±1.14	4.00±1.48	7.09±1.30	5.36±1.63
단맛	3.75±1.36	4.82±1.60	3.55±1.86	3.82±1.78
신맛	6.65±0.81	5.36±1.80	7.36±0.81	4.73±1.95
현미맛(무맛)	5.28±1.14	5.73±1.35	6.00±1.73	5.27±1.56
발효미	5.52±0.98	5.18±1.60	6.50±1.27	5.00±1.76
전반적인맛	5.66±0.67	5.73±1.42	7.55±0.93	4.45±1.69
청량감(탄산미)	4.40±1.99	5.18±1.72	6.00±1.34	5.18±1.47
목넘김	4.56±1.04	5.91±1.58	5.18±2.18	3.73±1.01
전체적인 기호도	-	5.64±1.50	-	4.27±1.56

5) 발효물의 살균방법의 검토

음료 살균 시 저산성 음료는 pH 4.6 이상으로 캔에 넣은 후 121℃, 3분 이상, 산성 음료는 pH 4.6이하로서 100℃ 이하의 저온살균을 실시하고 있는 것으로 알려지고 있다(Takano et al, 1998)

그러나 음료살균을 위해 높은 열처리를 적용하는 것은 음료의 색상, 향미에 영향을 줄 가능성이 크고 특히 본 연구의 현미발효물이나 무발효물의 풍미 중 상큼한 풍미(freshness)는 열에 매우 민감하기 때문에 허들기법(hurdle technique)을 적용하는 것이 음료의 품질 유지에 유리할 것이다.

Leistener 등(1979, 2000)이 미생물로부터 식품을 보존하기 위한 수단을 허들이라고 명명한 이후 허들은 온도(고온-열살균, 저온-보존온도), pH, Aw(건조, 고삼투), 산화환원전위, 가스환경(CO₂, O₂, N₂), 포장(진공, 무균), 압력(초고압), 전자파(초음파, 마이크로파, PEF), 미생물 및 보존제(유기산, 천연 보존제 등) 등 미생물의 공격에서 방어하는 수단으로서 다양하게 제시되고 있다.

본 연구에서는 현미 및 무발효물에 대해 적합한 허들처리기술을 통하여 품질 열화를 최소화하고 미생물적 안전성을 확보하고자 발효음료를 직접 혹은 발효음료에 젓산균주(Lac. casei 등)를 10⁷ cell/ml가 되도록 접종하고 Joule가열(100℃ 설정), 초고압처리(25℃, 300MPa), 초음파처리(20kHz, 80% amplitude)를 실시하여 살균효과와 풍미를 평가하고자 하였다.

허들처리에 있어서 현미발효물과 달리 무발효액은 열에 극도로 민감하여 열을 가할 경우 균덕내와 같은 이취가 발생하는 특성이 있어서 열처리 관련 처리기법에서는 무발효물은 다루지 않고 초고압처리법만을 다루었음을 밝혀둔다.

열수처리법에서(표 7) 현미발효액을 온도별로 열수처리한 후 젖산균의 사멸 효과를 평가한 경우 초기젖산균 8 log에서 1 log 수준으로 감화(reduction)되는 데 걸리는 시간은 60℃, 20분, 70℃, 10분, 80℃ 3분 및 90℃ 1분 이하 소요되었다.

Joule 가열처리법에서는 현미발효액에 대해 최종 도달 온도를 100℃로 설정하고 Joule 가열을 실시한 바 100℃에 도달되는 시간은 3분이었고(그림 7) 시료를 즉시 급냉하여 현미발효물의 젖산균수를 측정된 결과 모두 사멸되는 것으로 분석되었다.

초음파 처리의 경우(표 9) 현미발효액 및 무발효액은 초음파(20kHz, 80% amplitude)로 1시간 동안 처리를 하여도 젖산균의 사멸 효과를 관찰할 수 없어 초음파 처리는 현미와 무발효물의 살균에 적합하지 않은 것으로 판단되었다.

한편 현미 혹은 무발효물의 젖산균은 초고압처리에 의해 균 감화(reduction) 효과를 보였는데(표 9) 젖산균을 별도로 접종한 처리구에 대해 300 Mpa, 30분 처리 시 약 5 log 수준 만큼 감소하였고 동일한 조건에서 젖산균을 접종하지 않은 현미발효액은 모두 사멸되는 것으로 나타났다. 계속해서 상기 시료들에 대해 통상적인 초고압 처리조건인 20℃, 500 Mpa에서 5분간 처리한 경우 모든 시료에서 젖산균이 사멸하는 것으로 나타났다.

그 외 현미발효액 및 무발효액을 냉동 후 해동하여 총균수 및 젖산균수를 측정된 경우 전혀 검출되지 않아 현미와 무발효물은 냉동처리에 매우 민감한 특성을 보이는 것으로 판단되었다.(data not shown)



그림 6. 초음파처리기, Joule가열기 및 초고압처리기

표 7. 현미발효물의 열수처리 시 젖산균의 사멸 효과

단위 : Log cfu/ml

온도	Time(mins)						
	0	1	3	5	10	20	30
60℃	8.77	-	-	3.28±0.08	1.54±0.03	0.69±0.12	0.48±0.23
70℃	8.77	-	-	1.26±0.58	0.54±0.34	-	-
80℃	8.77	-	0.15±0.21	-	-	-	-
93℃	8.77	-	-	-	-	-	-

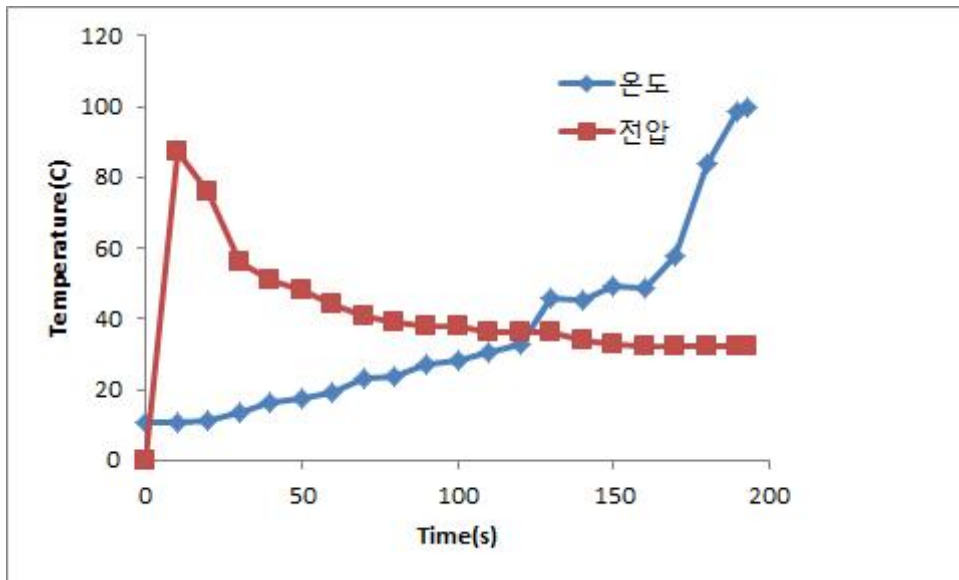


그림 7. Joule 가열 중 온도 및 전압의 변화

표 8. 초음파 처리 시 젖산균수

unit : log cfu/ml

시 료	Time(mins)		
	0	30	60
현미발효물	8.03	8.11	8.05
무발효물	7.88	7.85	7.90

표 9. 발효액의 초(중)고압 처리시 젖산균의 사멸 효과

unit : log cfu/ml

처리구	Time(mins)			
	0	300 Mpa		500 Mpa
		30	60	5
멸균현미발효액 + 젖산균	7.49±0.00	2.30±0.00	2.54±0.09	ND
멸균무발효액 + 젖산균	7.41±0.13	2.54±0.09	-	ND
현미발효액(원액)	8.42±0.04	-	-	ND

상기 결과를 볼 때 현미 및 무발효물은 냉동, 60°C-93°C 단시간 열처리, 초고압처리(300 Mpa, 30분 혹은 500 Mpa, 5분), 100°C, Joule 가열처리를 통해 충분히 살균이 가능한 것으로 판단된다.

그러나 현미 혹은 무발효물을 이용하여 제조한 음료의 품질에서의 관건은 발효물(음료) 고유의 풍미 기호도 유지와 살균일 것이다.

발효물의 풍미 유지 수준을 검토해 볼 때 열수처리의 경우 60℃는 20분, 70℃에서는 10분, 80℃에서는 3분 및 93℃에서는 1분 까지 대조구와 대비하여 유사한 향미를 유지하는 것으로 평가되고(표 10) Joule 가열처리구는 설정온도 100℃ 도달시간이 3분으로서 풍미유지를 위해서는 설정온도를 다소 낮출 필요가 있고 냉동처리법의 경우에는 풍미에는 전혀 문제가 없지만 해동 과정 등 공정상의 비효율성을 감안할 필요가 있을 것이다.

상기 처리방법 중에서 대표적인 비가열처리 방법인 초고압 처리조건은 풍미에 영향을 거의 주지 않고 젖산균을 충분히 살균할 수 있으므로 현미와 무발효물을 이용한 음료의 품질 유지에 또 하나의 적합한 방법으로 판단된다.

표 10. 현미 및 무발효물의 열처리에 의한 대조구 대비 풍미 차이식별 검사

온도(℃)	Time(mins)						
	0	1	3	5	10	20	30
60	-	-	-	-	-	-	+
70	-	-	-	-	+	++	+++
80	-	-	-	+	++	+++	+++
93	-	-	+	++	+++	+++	+++

- : 차이가 대조구와 거의 식별 되지 않음, + 차이가 대조구와 식별됨

6) 음료 시제품의 저장성 평가

본 연구에서는 현미와 무발효물을 이용한 음료시제품에 대해 상기 살균시험에서 이상적인 살균방법으로 평가된 초고압처리방법을 적용하여 4℃와 30℃에서 4주간 저장하면서 총균, 효모곰팡이 및 젖산균과 유기산 및 유리당을 평가하였다.(표 11, 표 12, 표 13, 표 14, 그림 8 및 그림 9)

상기 시제품 중 초고압처리를 하지 않은 대조구는 pH 3.39, 산도 0.5%로 산성이 강한 음료이고 총균수는 8.49 log, 젖산균 8.35 log, 효모 및 곰팡이 6.64 log의 특성을 가지나 이를 초고압 처리할 경우에는 pH와 산도는 대조구와 동일하였지만 총균수는 2.01 log, 젖산균 2.54 log, 효모 및 곰팡이 제로 수준으로 격감하였다.

상기 초고압처리 시제품을 4℃에 저장 시 시간 경과에 따라 대조구는 pH가 낮아지고 산도는 변화가 없었고 초고압처리구는 pH가 다소 상승하면서 적정산도는 감소하는 경향을 보였으며 총균수와 젖산균 및 효모곰팡이의 경우에 대조구는 변화가 없었으나 초고압처리구는 다소 감소하거나 초기수준을 그대로 유지하는 것으로 나타났다.

한편 4℃ 저장 12일 경에는 대조구는 초고압 처리구와 달리 팽창하여 더 이상 저장시험을 진행할 수 없을 정도가 되었는데 이는 대조구는 살균이 되지 않아 발효가 진행되었기 때문인 것으로 판단되며 반면 초고압처리구는 저장 30일 경까지 거의 변화가 없는 것으로 나타났다.

30℃ 저장시험의 경우에는 시간 경과에 따라 대조구의 pH는 낮아지고 산도는 증가하였으며

초고압처리구는 pH가 다소 상승하면서 적정산도는 감소하는 경향을 보였다. 여기서 대조구는 또한 총균수와 젖산균 및 효모곰팡이에서 다소 증가하는 경향을 보였으나 초고압처리구는 다소 감소하거나 초기수준을 그대로 유지하여 초고압처리구는 저장 안정성을 보이는 것으로 판단되었다.

실제로 대조구는 30℃ 저장 2 일 만에 크게 팽창하여 더 이상 저장시험을 진행할 수 없을 정도가 되었는데 이는 온도가 높기 때문에 4℃의 경우보다 발효가 급격히 진행되었기 때문인 것으로 판단되며 살균된 초고압처리구는 저장 30일 경에도 큰 변화를 보이지 않았다. 한편 포도당 및 젖산 및 초산성분의 변화를 볼 때 대조구에서는 포도당이 감소하고 젖산 및 초산은 증가하는 경향을 보이거나 초고압처리구는 저장 30일 경까지 초기수준을 유지하였다.(표 13, 표 14)

상기의 결과를 볼 때 현미 발효음료는 초고압 처리를 통해서 냉장 혹은 상온에서 최소 3주 이상 유통 가능할 것으로 평가되며 향후 실용화 단계에서 최종 유통기간 설정이 필요할 것이다.

본 연구 수행 중 주관기관(샘표식품)에서 다양한 음료시제품을 송부해 왔으며 그 중 오미자, 유자 및 생강 음료에 대한 평가도 일부 수행하였다. 이들 시료 역시 초고압처리에 의해 상기의 음료시제품과 유사한 저장 특성을 보였으나(그림 9, 표 15) 이들 시료에 대한 연구는 상품 컨셉의 문제로 진행되지 못하였다.

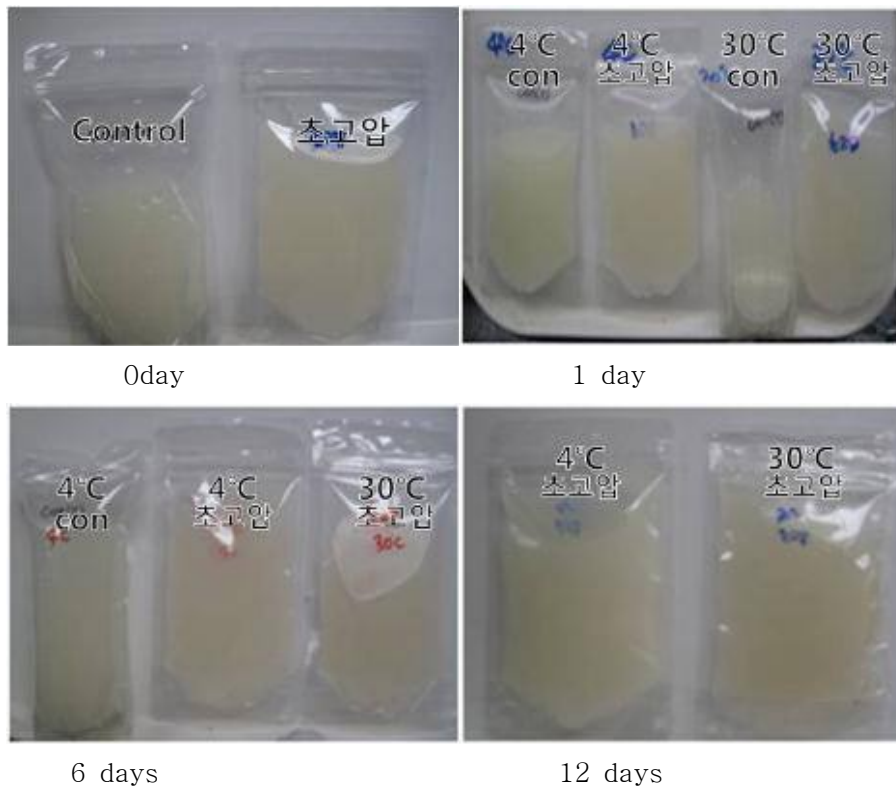


그림 8. 음료시제품의 저장 중 성장

표 11. 음료의 4°C 저장 중 pH, 산도, 총균수, 젖산균수 및 효모 및 곰팡이 변화

Samples	Storage time(days)						
	0	1	2	6	12	20	30
<u>pH</u>							
Con	3.39	3.25	3.28	3.29	-	-	-
HP	3.39	3.41	3.42	3.45	3.43	3.48	3.45
<u>적정산도</u>							
Con	0.50	0.50	0.50	0.50	-	-	-
HP	0.50	0.45	0.45	0.45	0.41	0.41	0.45
<u>총균</u>							
Con	8.49±0.03	8.54±0.04	8.53±0.04	8.34±0.01	-	-	-
HP	2.01±0.08	1.99±0.09	1.45±0.01	1.82±0.16	1.73±0.07	1.66±0.01	1.81±0.05
<u>젖산균</u>							
Con	8.35±0.12	8.54±0.04	8.44±0.06	8.12±0.05	-	-	-
HP	2.54±0.02	2.13±0.08	0.00±0.00	0.00±0.00	1.61±0.01	1.85±0.20	1.62±0.09
<u>효모/곰팡이</u>							
Con	6.64±0.05	6.87±0.20	6.76±0.02	6.55±0.01	-	-	-
HP	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00

표 12. 음료의 30°C 저장 중 pH, 산도, 총균수, 젖산균수 및 효모 및 곰팡이 변화

Samples	Storage time(days)						
	0	1	2	6	12	20	30
<u>pH</u>							
Con	3.39	3.15	-	-	-	-	-
HP	3.39	3.39	3.43	3.45	3.43	3.51	3.46
<u>적정산도</u>							
Con	0.50	0.63	-	-	-	-	-
HP	0.50	0.45	0.41	0.45	0.45	0.41	0.54
<u>총균</u>							
Con	8.49±0.03	8.52±0.01	-	-	-	-	-
HP	2.01±0.08	1.78±0.03	1.67±0.06	1.61±0.23	1.42±0.14	1.47±0.03	1.39±0.01
<u>젖산균</u>							
Con	8.35±0.12	8.63±0.01	-	-	-	-	-
HP	2.54±0.02	1.81±0.06	1.76±0.12	0.77±0.10	1.51±0.09	1.81±0.04	0.72±0.17
<u>효모/곰팡이</u>							
Con	6.64±0.05	7.13±0.06	-	-	-	-	-
HP	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00

표 13. 음료시제품의 저장 중 젖산의 변화

단위 : log cfu/ml

처리구	Storage time(days)						
	0	1	2	6	12	20	30
<i>Lactic acid</i>							
Con 4℃	0.402	0.477	0.476	0.522	-	-	-
HP 4℃	0.402	0.405	0.362	0.406	0.411	0.400	0.406
Con 30℃	0.402	0.562	-	-	-	-	-
HP 30℃	0.402	0.402	0.392	0.387	0.393	0.401	0.397
<i>Acetic acid</i>							
Con 4℃	0.009	0.014	0.014	0.016	-	-	-
HP 4℃	0.009	0.008	0.009	0.009	0.010	0.009	0.009
Con 30℃	0.009	0.013	-	-	-	-	-
HP 30℃	0.009	0.009	0.009	0.009	0.009	0.01	0.009

표 14. 음료시제품의 저장 중 포도당의 변화

단위 : log cfu/ml

처리구	Storage time(days)						
	0	1	2	6	12	20	30
<i>Glucose</i>							
Con 4℃	11.54	9.39	10.02	8.46	-	-	-
HP 4℃	11.54	12.03	11.90	11.88	11.18	11.22	11.43
Con 30℃	0.11	0.06	-	-	-	-	-
HP 30℃	0.11	0.11	0.09	0.07	0.11	0.10	0.11

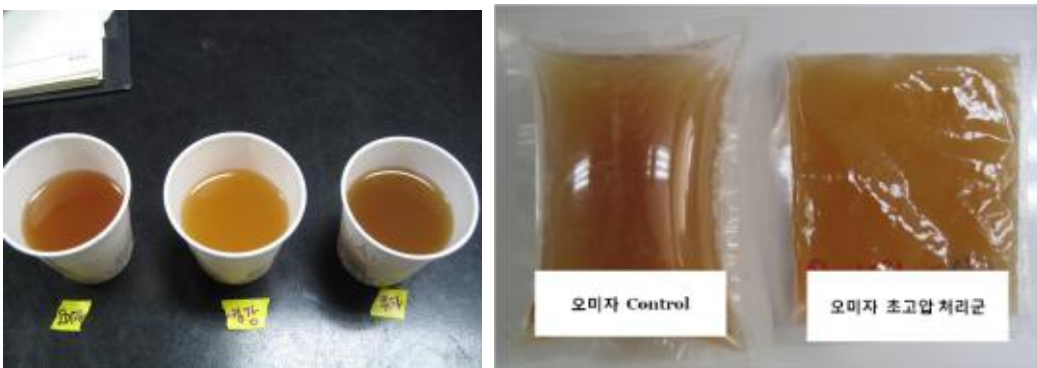


그림 9. 기타 음료시제품(오미자, 생강 및 유자 음료) 및 초고압 처리구 저장 결과

표 15. 초고압처리 음료제품(오미자, 생강, 유자)의 30℃ 저장 중 미생물 변화

unit : log cfu/ml

시료 종류	Control			초고압 처리구		
	0	7	21	0	7	21
총균	3.73	6.82	6.5	0	0	0
오미자						
젖산균	4.01	7.27	6.6	0	0	0.39
효모 및 곰팡이	3.88	>4log	5.53	0	0	0
생강						
총균	3.96	-	-	0	-	1.98
젖산균	4.25	-	-	0	-	0
효모 및 곰팡이	3.98	-	-	0	-	0
유자						
총균	3.95	-	-	0	-	0.9
젖산균	4.17	-	-	0	-	0
효모 및 곰팡이	4.07	-	-	0	-	0

제 4 절 미국인 소비자 선호형 한식음료 특성 평가

1. 연구방법

가. 설문조사 및 관능평가

국내거주 미국인, 뉴욕 및 LA 지역 미국인을 대상으로 음료에 대한 인식에 관한 설문조사와 함께 현미 발효음료 2종에 대한 관능평가를 실시하였다. 관능평가는 9점 hedonic 척도로 외관, 향, 풍미, 마우스필, 청량감 및 종합적기호도에 대해 실시하였으며 기호도와 관련한 속성 평가를 위해 발효향과 발효미, 단맛, 신맛, 탄산미 속성에 대한 강도(intensity)에 관해 JAR(Just About Right) 척도법으로 평가를 하였다.

나. FGI

미국인 패널 5명씩 3개의 그룹으로 나누어 대형 원형테이블과 의자가 갖추어져 있는 회의실에서 각각의 패널에게 음료에 대한 소개와 더불어 준비된 설문지를 기초 자료로 활용하여 음료 2종에 대하여 자유롭게 평가를 하도록 진행하였다.

다. 통계처리

data는 평균±표준편차(mean±standard deviation)로 표시하였고, 각 실험군의 유의 성은 Statistical Analysis system(SAS) 프로그램을 이용하여 분산분석(ANOVA)과 Duncan의 다중범위 검정(Duncan's multiple range test)을 실시하였다.

2. 미국인 소비자 선호형 한식음료 특성 평가

1) 미국인 선호 음료 특성 조사

최근 미국의 음료시장 동향, 음료섭취조사, 곡류음료, 요쿠르트 관능특성 평가 등에 관한 자료를 조사해 본 바 미국인의 늘어나는 비만은 sweetened beverage의 소비량과 밀접하므로 기호면에서는 단맛과 연관이 크며 이를 줄이기 위해 여러 주(state)에서 세금부과를 추진 중일 정도이다.(2010, Hendrick VE)

미국 음료시장은 저칼로리, 무설탕, 생수시장의 성장세 뚜렷, 기능성 음료의 수요가 급부상(Google, 2013) 하고 있으며 비알콜성 음료 구매자의 33%는 과일주스를 가장 건강한 음료로 여기나 가격 부담으로 과일맛의 바틀워터에 관심이 집중되고 있었다.

본 연구에서는 현미 혹은 무발효물을 이용한 음료개발을 목적으로 하고 있으나 이와 직접적인 연구사례가 없어서 개발예정 품목이 젓산 발효물인 점을 감안하여 젓산발효물(요쿠르트)의 묘사분석 연구 사례를 참고하고자 하였다.

요쿠르트의 주요 관능적 속성을 살펴보면 appearance에서는 yellowness와 thickness가 aroma에서는 sour, fruity 및 yeasty가 주요 속성이었고 flavor에서는 sweet, sour 및 fruity가 mouthfeel에서는 mouthcoat 및 astringent가 주요 속성이었으며 aftertaste에서는 sour를 주요 속성으로 제시하고 있다.(2011, Gonzalez NJ 등)

본 연구에서는 상기 조사자료를 토대로 미국인 기호에 맞는 음료개발을 위해 표 16과 같이

설문지를 작성하여 국내 거주 미국인 및 미국 현지인을 대상으로 음료에 대한 의견 조사를 실시하였다.

국내 거주 미국인들의 조사에는 총 30명이 참여하였으며 일반사항으로서 남성 48%, 여성 52%, 20-29세 57%, Caucasian 65% 및 African American이 9%를 차지하였다.

미국인들의 음료에 대한 인식에서 일상적으로 마시는 음료타입은 과일주스 및 기능성 음료가 주를 이루고 있으며 맛이 음료를 선호하는 이유이고 청량감과 기능성은 매우 중요한 인자로 지적되었다. 음료가 건강에 미치는 영향으로서는 당뇨>충치>비만>고혈압 순으로 크게 나타났으며 건강을 위해 과일음료를 가장 선호하였고 그 다음으로 야채주스와 기능성 음료를 선호하는 것으로 조사되었다.

미국인 응답자들 대부분은 음료에서 인공향이나 보존료를 개선하기를 원하고 pet병 혹은 유리병에 10-15 Oz 용량으로 포장되기를 희망하였고 1-2불 혹은 3-4불 수준의 가격대를 원하였다.

한편 미국 현지인들의 조사에는 총 31명이 참여하였으며 남성 33.3%, 여성 66.6%, 19세 이하가 58%, Caucasian이 61%를 구성하였다.

국내 거주 미국인들과 같이 미국 현지인들 대부분은(45%) 선호하는 음료가 과일주스였으며 58%는 맛 때문에 음료를 선호하였다. 음료의 속성에 대해서는 청량감(96%)> 기능성(77%)> 단맛(51%)의 순으로 매우 중요하게 인식하는 것으로 나타났다. 응답자들은 음료가 건강에 미치는 영향으로서 비만(35%)>충치(25%)>당뇨(22%)의 순으로 크다고 응답하였으며 건강을 위해서 과일음료를 가장 선호하였다.

응답자 대부분은 음료에서 인공향이나 보존료를 개선하기를 원하고 pet병 혹은 유리병에 10-15 Oz 혹은 12 Oz 포장되기를 희망하였고 2-3불 수준의 가격대를 원하였다.

상기 결과에서 국내 거주 미국인과 미국 현지인의 조사결과를 서로 비교할 경우 주요 설문에 대한 의견이 거의 대부분 일치하는 것으로 나타나고 있으며 음료에 대한 미국인의 인식에서 청량감과 기능성이 매우 중요한 인자인 것으로 판단되었다.

한편 국내 거주 미국인과 현지 미국인들의 발효음료에 대한 구매의사가 각각 61% 및 54%로 나타난 점을 고려할 때 미국인을 대상으로 발효음료를 개발 시 시장 확보에는 큰 문제가 없을 것으로 전망되었다.

표 16. 음료에 대한 미국인의 인식 조사용 설문지

Name: _____
 Gender: Male Female
 Age: 19 or less 20~29 30~39 40~49 50~59 60 or older
 Ethnicity: Caucasian African American Asian Hispanic Korean Other ()

1. What is your favorite type beverage to drink?
 diet soda regular soda vegetable juice fruit juice
 functional beverage (vitamin drink or energy drink)
 fermented drinks

2. How often do you drink your favorite beverage?
 once-daily more than two times a day 3~4times a week 1~2times a week 2~3times a month rarely

3. When do you usually drink your favorite beverage?
 after meals during meals while eating a snack
 after exercising anytime

4. Why do you drink your favorite beverage? (select those that apply)
 it contains nourishing supplements to quench my thirst
 substitute for water I like the taste it improves health
 fatigue recovery dieting it is a habit
 it reduces my stress levels

5. How important are the features of drink to you?

Drink Features	not important at all	not important	average	important	very important
color					
pulp /particles					
sweet taste					
sour taste					
carbonation					
fermented					
refreshing					
function health/energy					
packaging					

6. Have you ever tried a health drink?
 Yes (go to question 6-1) No (go to question 8)

6-1. What was the name of health drink and what did you think of it?

7. What do you think about health drinks?
 they taste good they taste bad they are good for you
 they are bad for you they are not bad or good for you

8. Are you concerned about the health risks of certain beverages?
 (For example: diabetes, obesity, high blood pressure, tooth cavities)
 Yes (selected go number 8-1) No (selected go number 8-2)

8-1. What type of health risks resulting from beverages concern you?
 obesity high blood pressure diabetes cavities
 other ()

8-2. What beverage do you drink for your health?
 fruit juice vegetable juice
 functional beverages (vitamin/energy) fermented beverages
 diet soda

8-3. What one improvement would you like to see for the beverages you drink?
 lower calories fewer artificial flavorings & preservatives
 more pulp less pulp more functional ingredients
 other ()

8-4. How do you control your sugar intake?
 decrease sugar use use natural sweeteners
 use artificial sweeteners

9. What beverage packaging do you prefer?
 PET (plastic) can glass (bottle) paper pack

10. What do you think should be the proper amount of beverage?
 40~60 Oz (bottle) 10~15 Oz (typical bottled water size)
 12 Oz (soda can size) 4~5 Oz (juice pack)

11. Is a fermented beverage something you would consider purchasing?
 Yes No

12. How much are you willing to pay for a beverage?
 less than 1\$ \$1~2 \$2~3 \$3~4
 more than \$4

2) 외식 전문가를 통한 평가 속성 개발

본 연구에서는 표 17과 같이 설문지를 작성하여 국내외 전문가 조사를 실시하고 결과를 분석

하여 미국인을 대상으로 하는 관능평가 속성을 개발하고 이를 반영한 설문지를 작성하여 현미 및 무발효음료의 미국 현지인 소비자 시식평가에 적용하고자 하였다.

본 연구에 설문에 참여한 전문가들은 국내 외식 분야 전문가 4인 및 미국 현지 전문가 4인으로서 셰프, 교수 및 식품학자로 구성되었다.

전문가들은 기능성 음료를 선호하고 하루에 2회 이상 음용하는 습관이 있으며 음료를 선호하는 이유는 습관 및 스트레스 완화 때문으로 응답하였다. 음료에 대한 속성 평가에서는 기능과 청량감 및 포장을 중요시 하였다.

전문가들 50% 이상은 음료가 건강에 미치는 영향으로서 비만과 당뇨를 지적하였고 음료에서 인공향이나 보존료 개선 및 설탕 대신 천연 감미료를 원하였다.

발효음료에 대한 의견에서는 현미 발효음료에 대한 경험이 있었고 50%가 만족하였으며 맛, 향미 및 건강기능성이 경험 이유로 나타났다.

발효음료 개발시 반영해야 될 사항으로서는 향, 맛, 영양, 칼로리, 건강기능성 및 섬유질 중에서 맛이 가장 중요하고 그 다음으로 건강기능성을 제시하였다.

관능속성에 대한 정도에서는 과실, 고유향, 고유맛, 단맛, 탄산미를 강하게 하고 신맛과 뒷맛을 약하게 하는 것이 필요한 것으로 분석되었다.

전문가들의 의견 제안에서 Y 박사는 (Sensient Flavors사) 미국 소비자들은 천연향과 천연 색소를 원하여 많은 식품 기업에서 사용하고 있는 것으로 나타나고 있으며 비록 단가는 높아지지만, 합성 향이나 색소 보다 좋고 향, 맛 및 기능성 부분을 균형(balance) 있게 개발할 필요가 있고 현미발효음료는 동남아국가에서도 선호할 것으로 기대되므로 동남아 국가도 검토가 필요하다고 하였다.

L 교수는(Wisconsin대) 현미발효음료를 Soy-milk 혹은 고소한 맛을 가진 식사대용 드링크로 개발하여 운동 후 protein drink처럼 섭취하면 좋을 것이란 제안을 하였고 C 대표는(Sempio food service 미주 지사장)은 미국인들은 단맛 11.4%, 신맛 15% ~ 20%의 비중으로 선호하며 현재 탄산음료가 전체매출의 46% 차지, 피로회복용 에너지드링크 3-5\$ 수준, 쾌감(단맛 제외), 특쓰는 맛, 자연의 맛, 자연의 색상을 선호, 천연음료에 2-3\$ 지불, 발효 강조 시 선호 가능성이 높다고 하였다.

표 17. 음료에 대한 전문가 조사 설문지

1. 즐겨 마시는 음료형태는 무엇입니까?
 탄산음료(콜라,사이다) 과일주스 야채주스 기능성음료

2. 얼마나 자주 드십니까?
 하루 한번 하루 두번 이상 일주일 3~4회 일주일 1~2회 한 달 2-3회 거의 먹지 않음

3. 언제 주로 드십니까?
 식 후 식사 중 군것질(간식) 때 운동 후 아무 때나

4. 음료를 섭취하는 이유는 무엇입니까? (복수응답)
 영양 보충 감증해소 물 대체 맛 건강증진 피로회복
 다이어트 습관적으로 기분전환 (스트레스 해소)

5. 현재 마시는 음료에서 중요하게 여기는 주요 특성은 무엇입니까?

항목	전혀 중요하지 않다	중요하지 않다	보통이다	중요하다	매우 중요하다
색상					
과육유무					
단맛					
신맛					
탄산미					
발효취					
청량감					
기능성					
포장형태					

6. 평소 음료로 인한 건강피해를 걱정하십니까? (ex. 비만, 충치, 당뇨, 혈압 등)
 네 (선택시 6-1으로) 아니오 (선택시 7번으로)

6-1. 어떠한 건강피해를 염려하십니까?
 비만 혈압 당뇨 충치 기타 ()

6-2. 건강을 고려하여 선호하는 음료는 무엇입니까?
 과일주스 야채주스 기능성음료 발효 음료 다이어트콜라

6-3. 현재 마시는 음료에서 개선되었으면 하는 사항은 무엇입니까?
 저 칼로리 무 인공첨가물(합성착향료, 유허제, 감미료, 보존제, 식용색소 등)
 섬유소 가미 기능성 물질 첨가 기타 ()

6-4. 건강을 고려하여 당 함량 조절시 허용하는 방안은 어느 수준입니까?
 설탕 함량 감소 천연 감미료 대체 인공 감미료 대체
 설탕 함량 현행 수준 유지

7. 쌀 혹은 무 발효음료를 경험한 적이 있습니까?
 쌀 발효음료 : 있다 (7-1번으로) 없다 (8번으로)
 무 발효음료 : 있다 (7-1번으로) 없다 (8번으로)

7-1. 있다면 어떤 정도로 경험하셨습니다?
 음식점 (나라:) 상점 (제품명:) 지인추천 가정에서

7-2. 만족도는 어떠하셨습니다?
 만족스러웠다 (7-2-1번으로) 보통이다 (7-2-2번으로) 불만족스러웠다 (7-2-2번으로)

7-2-1. 만족스러웠다면 어떠한 점이 만족스러웠습니까?
 맛 향 건강 기능성 독특한 음식과 어울림 기타 ()

7-2-2. 만족스럽지 않았다면 어떠한 점이 불만족스러웠습니까?
 맛 향 낯설음(unfamiliar) 텍스처 기타 ()

8. 쌀 혹은 무 발효음료 개발 시 고려해야 할 주요 특성은 무엇입니까? (복수응답)

쌀 음료	무 음료
<input type="checkbox"/> 향이 거부감이 없어야한다.	<input type="checkbox"/> 향이 거부감이 없어야한다.
<input type="checkbox"/> 맛이 좋아야한다.	<input type="checkbox"/> 맛이 좋아야한다.
<input type="checkbox"/> 영양이 풍부해야한다.	<input type="checkbox"/> 영양이 풍부해야한다.
<input type="checkbox"/> 열량이 낮아야한다.	<input type="checkbox"/> 열량이 낮아야한다.
<input type="checkbox"/> 건강기능성이 있어야한다.	<input type="checkbox"/> 건강기능성이 있어야한다.
<input type="checkbox"/> 섬유소가 풍부해야한다.	<input type="checkbox"/> 섬유소가 풍부해야한다.

9. 주스음료로 선호하는 과일이나 야채는 무엇입니까? (복수응답)
 토마토 당근 오이 사과 오렌지 딸기 포도 배 무 기타

10. 쌀 혹은 무 발효 음료 개발 시 각 특성의 강도는 어느 정도가 적당하다고 생각하십니까?

쌀				무			
항목	약하게	보통	강하게	항목	약하게	보통	강하게
단 맛				단 맛			
신 맛				신 맛			
고유 재료 향				고유 재료 향			
고유 재료 맛				고유 재료 맛			
과육함량				과육함량			
과육크기				과육크기			
발효취				발효취			
발효미				발효미			
fruity				fruity			
탄산미				탄산미			
mouthcoat				mouthcoat			

11. 선호하는 음료 포장형태는 무엇입니까?
 PET (플라스틱) 캔 glass (bottle) 팩

12. 음료의 양은 어느 정도가 적당하다고 생각하십니까?
 40~60 Oz (bottle) 10~15 Oz (Nestle Bottled water) 12 Oz (Caca cola)
 4~5 Oz (juice pack)

13. 만일 기호를 고려하여 개발 시 구매 할 의향이 있습니까?
 있다 (13-1번으로) 없다

13-1. 구매 의사가 있다면 얼마에 구매하시겠습니까?
 1\$ 이하 1~2\$ 2~3\$ 3~4\$ 4\$ 이상

3) 현미와 무발효물을 이용한 음료시제품의 미국 현지인 시식평가

(1) 음료시제품에 대한 focus group interview

본 연구에서는 상기의 미국인 소비자 및 전문가 의견을 토대로 시식용 설문지를 작성하여(표 18) 1차적으로 현지 미국인 15인을 3그룹으로 나누어 음료시제품 A 및 B에 대하여 focus group interview를 실시하였다.

표 19에서와 같이 시제품 A 및 B에 대하여 전반적인 외관은 각각 4.1 및 4.5점, 전반적인 향 3.7 및 3.5점, 전반적인 풍미 2.8점 및 4.4점, 입촉감 3.7점 및 4.6점으로 시제품 A, B 모두 절대 점수는 낮은 편이지만 시제품 A 보다는 시제품 B가 높게 나타났다.

한편 시제품 A 및 시제품 B에 대한 관능속성에 대한 JAR 척도 평가에서 단향 및 과실향의 강도가 매우 약하고 알콜향이 다소 강하였다. 또한 이들 시료는 단맛과 탄산미가 매우 약하고 신맛과 알콜맛이 다소 강한 것으로 나타났다.

상기의 특성들은 두가지 시제품에 대한 낮은 종합적인 기호도와 관련이 있는 것으로 생각되며 실제로 표 20의 현미시료 A 및 B에 대한 FGI 의견에서도 잘 확인되고 있다.

따라서 상기 시제품의 미국인 기호도를 높이기 위해서는 과실향의 부여, 단맛 강화 및 신맛과 알콜맛의 축소가 중요한 개선포인트로 지적되었다.

표 18. 미국인 Focus group interview용 설문지

Attributes	Please, assign a score and comments <i>(ex: 1. Hedonic score-6, comment-appetizing b)-JAR scale 2, comment-more clean)</i>	
	A Dislike ex. 1 2 3 4 5 6 7 Weak JAR Strong 1 2 3 4 5	B Dislike ex. 1 2 3 4 5 6 7 Weak JAR Strong 1 2 3 4 5
1. Appearance-overall a) <i>whiteness</i> b) <i>cleanness</i> c) <i>particles</i> d) <i>turbidity</i>	1.- comment a)- b)- c)- d)-	1.- comment a)- b)- c)- d)-
2. Aroma - overall a) <i>fermented</i> b) <i>alcohol</i> c) <i>rice milk</i> d) <i>sweet</i> e) <i>sour</i> f) <i>fruity</i> g) <i>refreshing</i> h) <i>off-odor</i>	2.- comment a)- b)- c)- d)- e)- f)- g)- h)-	2.- comment a)- b)- c)- d)- e)- f)- g)- h)-
3. Flavor/taste -overall a) <i>fermented</i> b) <i>alcohol</i> c) <i>rice milk</i> d) <i>sweet</i> e) <i>sour</i> f) <i>fruity</i> g) <i>refreshing</i> h) <i>carbonation</i>	3.- comment a)- b)- c)- d)- e)- f)- g)- h)-	3.- comment a)- b)- c)- d)- e)- f)- g)- h)-

<i>i) savory(umami)</i> <i>j) astringent</i> <i>k) off-taste</i>	i)- j)- k)-	i)- j)- k)-
4. Mouth feeling-overall <i>a) full body</i> <i>b) consistency</i> <i>c) mouthfeeling(coating)</i> <i>d) after taste(umami)</i>	4.- comment a)- b)- c)- d)-	4.- comment a)- b)- c)- d)-
5. Overall taste combination 6. Overall acceptability 7. Likelihood of purchasing	5- 6- 7-	5- 6- 7-
Overall Suggestion for improvement		

표 19. 음료에 대한 FGI 시식 평가

Attributes	A	B	t	Attributes	A	B	t
Appearance-overall	4.13±1.25	4.47±1.41	-0.687	alcohol	3.43±0.99	3.53±0.99	-3.871***
whiteness	2.80±0.41	3.20±0.41	-2.646*	rice milk	1.27±0.46	1.73±0.80	-1.963
cleanness	2.8±0.77	2.60±1.06	.592	sweet	1.00±0.00	1.47±0.52	-3.500**
particles	2.53±0.83	3.73±0.70	-4.260***	sour	3.72±.80	3.93±0.80	-2.286*
turbidity	2.40±0.74	3.60±0.63	-4.786***	fruity	1.13±0.35	1.47±0.52	-3.500**
Aroma-overall	3.67±0.82	3.53±1.19	.358	refreshing	1.53±0.52	2.40±0.91	-3.207**
fermented	2.13±0.92	2.93±0.46	-3.027*	carbonation	1.00±0.00	1.00±0.00	
alcohol	3.40±0.62	3.27±0.80	-2.302*	savory(umami)	1.60±0.83	1.87±0.83	-.879
sweet	1.30±0.46	1.13±0.35	.894	astringent	2.80±0.56	3.00±0.38	-1.146
sour	2.77±0.80	3.33±0.90	-1.931	off-taste	2.40±1.06	2.93±1.10	-1.355
fruity	1.13±0.26	1.20±0.41	-1.058	Mouth feeling-overall	3.73±1.28	4.60±1.72	-1.563
refreshing	2.0±0.52	2.40±1.12	-1.103	full body	1.67±0.82	3.73±0.96	-6.347***
off-odor	2.40±0.99	3.07±1.10	-1.748	consistency	2.20±0.77	3.27±0.96	-3.347*
Flavor/taste-overall	2.80±1.26	4.40±1.55	-3.098**	mouthfeeling(coating)	2.13±1.06	3.40±1.40	-2.788**
fermented	2.33±0.82	3.07±0.70	-2.635*	after taste(umami)	1.93±0.88	2.13±0.99	-.584

표 20. 음료시제품에 대한 FGI - 코멘트

Sample A
-Overall this drink was too light for me. Almost light, It tasted like sour water.
-This can be a good drink. Add sweet andfruity flavors.
-This taste too light and watery.
-Add sweet add carbonation. Increaseparticles.
-This beverage is light and has lessflavor.
-Reduce the sourness, add carbonation, add sweetness.
-This tasted like a light version ofsample B.
-This is a lighter drink. Still needscarbonation and sweetness.
-Too light, taste sour ,add sweet.
-Add carbonation, Reduce sour. This is alight drink.
-Increase concentration of beverage. Thisdrink is too weak and light.
-More sweetness more fruity flavorparticles is good, less alcohol.
-This is similar to sample B but it is toolight.
-Less alcholtaste. Strong fermented flavor needed.
-Needs more flavor. Tastes like sourwater.
Sample B
-I enjoyed this drink. Adding carbonationand a little sweetness would be good.
-This drink is strong too sour. Take out the alcoholand increase sweetness.
-Add sweetness and reduce the sour. Addcarbonation to enhance mouthfeel.
-Add some and flavor also addcarbonation to increase mouthfeel.
-Good beverage needs more sweetnessCarbonation but not necessary.
-I recommend increasing sweetness. Addcarbonation for good mouthfeel.
-Remove the alcohol Add fruit sweetness add carbonation.
-This drink is too strong and sour for me.Reduce sour. Add carbonation and sweetness.
Reduce particles.
-Increase sweetness.
-Increase sweet. Add carbonation.
-Good health drink flavor. Add somesweetness maybe reduce sour. Add carbonation for texture.
-Less sour. Less alcohol.
-This can be a good drink. Add sweet tobalance sour. Maybe add carbonation to enhance mouthfeel.
-Less alcohol taste and small more sweetness to balance sour.
-More sweet and fruity flavor. Take outthe alcohol.

(2) 미국인 소비자 시식 평가

본 연구에서는 뉴욕 및 LA 현지 미국인을 대상으로 음료시제품 A 및 B에 대하여 9점 평점법 및 JAR 척도로 시식평가를 실시하였다.(표 21, 표 22, 표 23, 표 24)

표 21에 나타난 바와 같이 뉴욕 거주 미국인들의 조사에서는 총 64명이 참여하였으며 일반사항으로서 남성 43%, 여성 57%였고 미국인이 84.4%, 18-24세가 84.4%를 차지하는 특징을 보였다. 시제품 A와 B는 기호도에 서로 유의적인 차이를 보이지 않았고 외관에서는 각각 6.84점 및 6.56점, 향 3.48점 및 3.44점, 풍미 2.27점 및 2.31점, mouthfeel 1.83점 및 2.13점, 청량감 1.83점 및 1.88점, 기호도 2.91점 및 2.81점으로서 외관을 제외하고 모든 속성에서 낮은 점수를 기록하였다.(표 22)

시제품 A와 B에 대하여 몇가지 중요속성에 대해 JAR(just about right) 척도 평가시 A와 B는 차이를 보이지 않았고 발효향에서 각각 2.39 및 2.44로서 보통 수준이었고 신맛은 3.61점 및

3.58점으로 보통 이상이었으며 발효맛, 단맛 및 탄산미는 2.0 이하로 약한 수준을 나타내었다.

상기 결과로부터 뉴욕 현지인들은 시제품 A와 B에 대하여 매우 낮은 기호도를 보였는데 JAR 척도 평가 결과를 볼 때 시제품 A 및 B에 대한 미국인들의 기호도를 높이기 위해서는 신맛을 줄이고 단맛과 향미(flavor)를 강화해야 할 것으로 전망되었다.

표 21. 뉴욕지역 미국인 소비자 일반사항(n=64)

Variables	Group	Respondents(%)
Sex	Male	57
	Female	43
Age	18-24	84.4
	25-34	12.5
	35-44	-
	45-54	-
	55-64	1.5
	>64	-
	Country	USA
	Europe	3.1
	Australia	1.6
	Other	6.3

표 22. 음료시제품에 대한 뉴욕지역 소비자 관능평가(n=64)

Hedonic scale			
Attributes	A	B	t
appearance	6.84±1.62	6.56±1.67	.968
aroma	3.48±1.81	3.44±1.68	.152
flavor	2.27±1.38	2.31±1.33	-.195
mouthfeel	2.06±1.32	2.13±1.24	-.276
refreshing	1.83±1.40	1.88±0.97	-.221
preference	2.91±1.90	2.81±1.69	.295
Jar scale			
	A	B	t
fermented aroma	2.39±0.92	2.44±0.94	-.285
fermented flavor	1.91±0.75	1.92±0.84	-.111
sweetness	1.75±0.80	1.80±0.89	-.313
sourness	3.61±1.28	3.58±1.31	.137
carbonation	1.48±0.69	1.48±0.69	.000

미국 LA 현지인 조사에서는 총 31명이 참여하였으며 일반사항으로서 남성 33.3%, 여성 66.6%, 18-24세가 58%, Caucasian 61%를 차지하였다.(표 23)

표 24에 나타난 바와 같이 시제품 A와 B는 외관에서는 각각 3.84점 및 4.23점, 향 4.29점 및 4.52점, 풍미 4.16점 및 4.68점, mouthfeel 4.60점 및 4.35점, 청량감 4.35점 및 4.45점, 기호도 4.39점 및 4.81점으로서 모든 관능 기호 속성에서 보통(5.0점) 이하의 수준을 나타내었다.

상기 결과는 뉴욕 현지인의 평가 결과와 다른데 LA 미국인들은 전반적으로 다소 높은 관능 평가 결과를 보였고 또한 시제품 A 보다 시제품 B의 기호도가 다소 높았지만 유의적인 차이는 없었다.

한편 시제품 A와 B에 대하여 몇가지 중요속성에 대해 JAR 척도 평가 시 시제품 A와 B는 서로 차이가 크지 않았고 발효향, 발효맛 및 신맛이 보통 이상의 수준이었으며 탄산미와 단맛이 3.0 이하의 보통이하 수준을 나타내는 것으로 평가되었다.

상기 결과는 뉴욕 현지인들의 평가 결과에 비해 전반적으로 높게 나타나고 있지만 다만 시제품 특징에 대한 평가는 뉴욕의 경우와 크게 다르지 않은 것으로 판단된다.

따라서 시제품 A 및 B에 대해 미국인의 기호도를 개선하기 위해서는 flavor 부여, 단맛의 강화 및 신맛의 축소가 선행되어야 할 것으로 생각된다.

표 23. LA 지역 미국인 소비자 일반사항 (n=31)

Variables	Group	Respondents(%)
Sex	Male	33.3
	Female	66.6
Age	18-24	58.0
	25-34	9.6
	35-44	-
	45-54	25.8
	55-64	6.4
	>64	-
Country	Caucasian	61.2
	Hispanic	3.2
	Asian	12.9
	Other	-

표 24. 음료시제품에 대한 LA지역 소비자 관능평가 (n=31)

Hedonic scale			
Attributes	A	B	t
appearance	3.84±1.71	4.23±1.80	-.866
aroma	4.29±1.87	4.52±1.93	-.468
flavor	4.16±1.95	4.68±2.20	-.978
mouthfeel	4.60±1.52	4.35±1.91	.554
refreshing	4.35±1.87	4.45±2.43	-.176
preference	4.39±1.87	4.81±2.24	-.799

Jar scale			
	A	B	t
fermented aroma	3.23±0.96	3.39±0.84	-.704
fermented flavor	3.13±1.15	3.65±1.08	-1.823
sweetness	2.45±1.21	2.47±1.07	-.051
sourness	3.29±1.04	3.77±0.88	-1.975
carbonation	2.00±1.20	2.03±1.08	-.109

(3) 우수한 미국인 기호도 개선을 위한 방향

본 연구는 젯산균을 이용하여 현미와 무를 발효시키고 이를 이용하여 장기능과 면역 활성화 기능을 가지면서 미국인의 기호에 맞는 음료를 개발하는데 최종 목적을 두고 있다.

당 연구팀은 협동연구로서 주관기관에서 제조 송부한 현미 및 무 발효물과 이를 이용한 음료시제품(오미자, 유자, 생강 함유)에 대하여 자체패널 평가, 국내 거주 미국인 평가, 미국 현지인 FGI 및 소비자 시식 평가를 실시하여 주관기관 샘표우리발효중심에게 피드백 하여 제품 개발에 참고가 되도록 하였다.

북미인들은 음료를 선택 시 청량감을 매우 중요시하였으며 비만 및 당뇨 등의 건강피해를 염려하여 건강지향적 기능성 음료를 추구하였다. 북미인들은 본 연구에서 개발한 음료시제품에 대해 낮은 기호도를 보였는데 이는 시제품이 강한 발효취와 강한 신맛 및 약한 단맛이 주요 요인으로 분석되었다.

따라서 향후 음료시제품에 대해 북미인들의 기호도를 더욱 높이기 위해서는 청량감을 포함하여 레몬과 같은 과실 flavor 부여, 신맛을 줄이고 단맛을 높이는 방향 등이 중요한 개선 포인트로 지적되었다.

본 연구를 진행하면서 음료 시료를 미국지역으로 전달하는데 어려움이 많았으며 소비자 평가에서 강한 발효취와 강한 신맛으로 시식을 거부하는 소비자들이 많았다.

결과적으로 우수한 평가를 받기에는 한계가 있었으나 일부 소비자들은 호평을 하는 경우도 있었고 깊고 구수하며 개운한맛 등 전통음료로서 차별적인 풍미를 보이고 건강기능성도 기대되기 때문에 앞으로 주관기관에서 국내외 전시회나 마트 등에서 적극적인 프로모션을 추진할 경우 성공적인 결과를 기대할 수 있을 것이다.

제 3 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

구분 (연도)	세부 과제명	세부연구목표	달성도 (%)	관련분야에의 기여도
1차 년도 (2013- 2014)	(제1세부과제) 장 건강 증진 용 현미발효물 /무발효물 및 한식음료 제품 개발	현미 발효용 유산균 선별 및 배양조건 확립	100	· 현미 유산균 발효에 적합한 균 선별 및 배양 조건 확립 · 향후 식물성 원료를 이용한 발효 신제품 설계 시 기초 자료로 활용
		현미의 발효 조건 최적화 및 품질 규격화	100	· 현미 유산균 발효 최적 조건 설정 완료 · 향후 식물성 요구르트 등 신제품 개발시 활 용 가능 · 현미발효물 품질 규격 설정 완료
		무발효용 유산균 선별 및 배 양조건 확립	100	· 무 유산균 발효에 적합한 균 선별 및 배양 조 건 확립 · 향후 식물성 원료를 이용한 발효 신제품 설계 시 기초 자료로 활용
		무의 발효 조건 최적화 및 품 질 규격화	100	· 무 유산균 발효 최적 조건 설정 완료 · 향후 한식음료, 소스 등 신제품 개발시 활 용 가능 · 무발효물 품질 규격 설정 완료
		현미 발효물 및 무발효물을 활 용한 한식음료 개발	100	· 현미와 무 발효물을 활용한 한식음료 개발 · 국내 소비자 관능평가
	품질안정화 기술 개발 및 미국 선호형 음료특성 평가	적정 hurdle 설정 및 최적 품질 안정화 조건 확립	100	기호도 평가 및 품질인자 도출 초고압, joule 가열, 초음파 처리, PEF 등 적용 hurdle tech 설정
		미국인 소비자들의 속성별 기호도 평가 및 우수 기호 조건 확립	100	미국인 소비자들의 속성별 기호도 평가 및 우수 기호 조건 확립 외식 전문가를 통한 평가 속성 개발

제 4 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

○ 특허 출원 1건

특허출원번호 : 10-2014-0113105

특허제목명 : 향미가 개선된 무 발효 조성물 및 그 제조방법

○ 학술발표 1건

현미발효음료에 대한 북미인들의 기호도 개선 방안. 조은지, 김영호, 이남혁, 홍상필. 2014 한국조리과학회 식생활문화학회 연합학술대회. 이화대학교, 서울. 2014년 5월

○ 현미·무 발효물 소재 개발 및 활용계획

개발된 현미·무 발효물 소재는 한식음료, 식물성 요구르트, 소스 등 활용할 예정임.

제 5 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

해당 사항 없음

제 6 장 주요 연구사항에 대해 시행기관의 장이 요구하는 사항

해당 사항 없음

제 7 장 연구시설·장비 현황

해당 사항 없음

제 8 장 참고문헌

1. Isolation and identification of soycurd forming lactic acid bacteria which produce GABA from kimchi. Eun-Ah Kim, So-Yon Mann, Su-In Kim, Ga-Young Lee, Dae-Youn Hwang, Hong-Joo Son, Chung-Yeol Lee, Dong-Seob Kim. *KoreanJ.Food.Preserv.*20(5), 705-711(2013).
2. The effect of *Lactobacillus buchneri* and *L. parabuchneri* on the production of CO₂ in cheese. Marie-Therese Fröhlich-Wyder, Stefan Irmeler. 2012 IDF Cheese Ripening & Technology Symposium
3. Characterization of lactobacilli from Scotch malt whisky distilleries and description of *Lactobacillus ferintoshensis* sp. nov., a new species isolated from malt whisky fermentations. KirstenL. Simpson, Bertil Pettersson and FergusG. Priest. *Microbiology* (2001),147,1007 - 1016.
4. Reclassification of *Lactobacillus ferintoshensis* as a later heterotypic synonym of *Lactobacillus parabuchneri*. MarcVancanneyt, Katrien Engelbeen, Marjan De Wachter, Katrien Vandemeulebroecke, Ilse Cleenwerck and Jean Swings. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*(2005),55,2195 - 2198.
5. 다양한 요리 양념에 이용할 수 있는 페이스트상 홍고추 발효 조성물, 이를 이용한 조미료 조성물 및 이의 제조방법. 샘표식품 주식회사 조연정, 장효순, 허병석, 김문석, 김동석, 정영선, 박정희, 정은희, 이영은. 공개특허 10-2013-0010648
6. Exploitation of vegetables and fruits through lactic acid fermentation. Raffaella Di Cagno, Rossana Coda, Maria De Angelis, Marco Gobbetti. *Food Microbiology*33(2013).
7. Growth Patterns of Lactic Acid Bacteria during Fermentation of Radish with Rice Water and Rice Bran. Joon-Il Cho, Hye-Jin Jung, Sang-Do Ha, and Keun-Sung Kim. *KOREANJ.FOODSCI.TECHNOL.*Vol.36,No.5,pp.837~841(2004).
8. Sensory and Microbiological Properties of *Dongchimi* added with *Gatt(Brassicajuncea)*. Jung-Eun Park, Hyung-Ryul Kim and Myung-Sook Jang. *KOREANJ. SOC, FOODSCI.* Vol16,No.1,February,2000.
9. Characterization of Volatile Components according to Fermentation Periods in *Gamdongchotmoo* Kimchi. Mi Kyung Yoon, Mi Jung Kwon, Sang Mi Lee, Ji Won Kim, Mi Sook Cho, Jong Mee Lee, and Young-Suk Kim. *KOREANJ. FOODSCI. TECHNOL.*Vol.40,No.5,pp.497~502(2008)
10. Metagenomic Analysis of Kimchi, a Traditional Korean Fermented Food. Ji Young Jung, Se Hee Lee, Jeong Myeong Kim, Moon Su Park, Jin-Woo Bae, Yoon soo Hahn, Eugene L. Madsen, and Che Ok Jeon. *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*, Apr. 2011, p. 2264 - 2274
11. 무 주스 제조를 위한 starter로써 동치미에서 분리한 유산균의 동정 및 발효 특성. 김정희, 김중일 *The Korean Journal of Microbiology.* Vol. 35. No. 4. December 1999. P 307-314
12. Bartowsky and Henschke; 2004; *The 'buttery' attribute of wine-diacetyl-desirability,*

- spoilage and beyond*; International Journal of Food Microbiology; 96; 235–252 p.
13. Bendall; 2001; *Aroma Compounds of Fresh Milk from New Zealand Cows fed different diets*, Journal of Agriculture and Food Chemistry; 19; 1825–4832
 14. Carunchia Whetstine, Croissant, Drake; 2005; *Characterization of Dried Whey Protein Concentrate and Isolate Flavor*; Journal of Dairy Science; 88; 3826–3839
 15. Fan and Quian; 2006; *Identification of Aroma Compounds in Chinese ‘Yanghe Daqu’ liquor by Normal Phase Chromatography Fraction Followed by Gas Chromatography Olfactometry*; Flav. Grag. J; 21; 333–42 p
 16. Huang, Duan, and Barringer; 2011; *Effects of Buffer and Temperature on Formation of Furan, Acetic Acid, and Formic Acid from Carbohydrate model systems*; LWT–Food Science and Technology; 44; 1761–1765 p
 17. In HY, Lee TS, Lee DS, and Noh BS; 1995; *Volatile components and fusel oils of Sojues and mashes brewed by Korean traditional method*; Korea Journal of Food Science and Technology; 27; 235–40 p.
 18. Kanehisa Laboratories; 2010; Figure S5; 00900 Terpenoid Backbone Biosynthesis; Retrieved from: <http://genomebiology.com>
 19. Kanehisa Laboratories; 2010; Figure S5; 00290 Valine, leucine, and isoleucine biosynthesis; Retrieved from: <http://genomebiology.com>
 20. Kuhn, Winterstein; 1932; Ber Deut. Chem. Ges; 65; 1823, 1933 p; 66; 429, 1733 p
 21. Lachenmeier, Haryot, and Schulz; 2008; *Defining Maximum levels of higher alcohols in alcoholic beverages and surrogate alcohol products*; Regul Toxicol Pharmacol; 50; 313–21 p.
 22. Lamsen and Atsumi; 2012; *Recent progress in synthetic biology for microbial production of C3–C10 alcohols*; Microbiol.; doi: 10.3389/fmicb.2012.00196
 23. Limacher, et al.; 2008; *Formation of Furan and Methylfuran by Maillard-Type Reactions in Model Systems and Food*; J. Agric. Food Chem.; 56; 3639–3647 p
 24. Mader I.; 1964; *Beta-carotene: Thermal Degradation*; Science; 144; 533–4 p
 25. McGraw GW., Hemingway RW., Ingram LL., Canady CS., and McGraw WB.; 1999; *Thermal Degradation of Terpenes: Camphene, Δ -3-Carene, Limonene, and α -Terpinene*; Environ. Sci. Technol.; 33; 4029–4033 p
 26. McSweeney and Sousa; 2000; *Biochemical Pathways for the Production of Flavour Compounds Produced in Whey*; J Applied Microbiology; 90; 928–942 p
 27. Ough, Guymon, and Crowell; 1966; *Formation of Higher Alcohols During Grape Juice Fermentations at Various Temperatures*; Journal of Food Science; 31; 620–625 p.
 28. Peterson, E., Margaritis, A., Stewart, R., Pilkington, P., Mensour, N.; 2004; *The Effects of Wort Valine Concentration on the Total Diacetyl Profile and Levels Late in Batch*

- Fermentations with Brewing Yeast Saccharomyces carlsbergensis*; J. Am. Soc. Brew. Chem.; 62(4); 131–139 p
29. Reineccius, Gary; 2006; *Flavor Chemistry and Technology*, Second Ed.; Taylor & Francis Group, LLC; CRC Press
 30. Rouseff, Onagbola, Smoot, Stelinski; 2008; *Sulfur Volatiles in Guava (Psidium guajava L.) leaves: Possible Defense Mechanism*; Journal of Agriculture and Food Chemistry; 56; 8905–8910
 31. Wang Z., and Wang C.; 2013; Is Breath Acetone a Biomarker of Diabetes? A Historical Review on Breath Acetone Measurements; Journal of Breath Research; 7; 037109 p
 32. Xiao, et al.; 2001; *Discrimination of Chinese Vinegars Based in Headspace Solid-phase Microextraction - Gas Chromatography Mass Spectrometry of Volatile Compounds and Multivariate Analysis*; J of Food Science; 76; C1125–35 p
 33. Yuda JL.; 1976; *Volatile Compounds from Beer Fermentation*; J Soc Brew Japan; 71; 818–30 p
 34. Angelov A et al. 2006. Development of a new oat-based probiotic drink. Int. J. Food Microbiol., 3(1) p75
 35. Nielson SJ, Barry BS, Popkin M. 2009. Changes un beverage between 1977 and 2001. American J. Preven. Med., 27(3) p205
 36. Gonzalez NJ, Adhikari K, Sancho-Madriz MF. 2011. Sensory characterization of peach flavored yoghurt drinks containing prebiotics and synbiotics. LWT Food Sci. Technol., 44, p158
 37. Blandino A et al. 2003. Cereal based fermented foods and beverages. Food Res. Inter, 36, p 527
 38. Kim DC et al. 2011. Utilization of *Leuconostoc mesenteroides* 310-12 strain in the fermentation of a traditional Korean rice-based beverage. J. Appl. Biol. Chem., 54(1), p21
 39. Ko EJ et al. 1995. Studies on the optimum fermenting conditions of Dongchimi for production of ion beverage. J Korean Soc. Food Nutr., 24(1), p141
 40. In MJ et al. 2010. Production of a Korean fermented pear puree using a new strain *Leuconostoc mesenteroides* KACC 91459P isolated from Kimchi. J. Appl. Biol. Chem., 53, p51
 41. Ann YG. 2001. Dongchimi fermentation for drinks. Korean J. Food & Nutr., 14(1), p46
 42. Hwang Y et al. 2004. Manufacturing watermelon beverage added with natural color extracts. Korean J. Food Sci. Technol., 36(2), p226
 43. Hedrick VE et al. 2010. The beverage intake questionnaire:determining initial validity and reliability. J. American Diet Asso., 110(8), p1227
 44. Leistner L. 1978. Hurdle effect and energy saving, in *Food Quality and Nutrition* Downey WK ed. Applied Science Publishers, London, England, p553
 45. Leistner L. 2000. Minimally processed ready to eat and ambient stable meat products, in

Shelf life evaluation of foods. CMD Man ed. An Aspen Publishers, Inc. Gaithberg, Maryland, p242

46. 정가진. 2008. 유산균과 장내미생물. 한방과 건강, 206, p46
47. 백영진. 1993. 유산균과 건강. 한국식품영양학회지, 6(1), p53
48. Utilization of *Leuconostoc mesenteroides* 31012 strain in the fermentation of a traditional korean rice-based beverage. J. Appl. Biol. Chem. 54(1), 21-25(2011).
49. Microbial Characterization of Jansu. Korean J. Food Sci. Technol. Vol. 23, No. 6, pp. 689-694(1991).
50. Amylase와 protease의 활성이 높은 현미 발효 미생물의 선별, The Korean Journal of Microbiology, vol. 42, No.2, June 2006, pp.160-163.
51. Acid production and phytate degradation using a *Leuconostoc mesenteroides* KC51 strain in saccharified-rice suspension. J. Appl. Biol. chem. 52(1), 33-37(2009).
52. 이성래, 발아현미를 이용한 요구르트 제조방법(2014, 특허등록).
53. 서혜영농조합법인, 쌀 요구르트 제조방법(2012, 특허등록).
54. 에스엔케이비즈(주), 유산균 발효에 의한 쌀 발효물(2013, 특허등록).
55. (주)프로바이오닉, 김치유산균으로 발효한 쌀당화액을 유효성분으로 함유하는 향균 및 항바이러스 효과를 가진 쌀유산균발효식품조성물(2013, 등록).
56. 농업협동조합중앙회, 쌀 성분의 함량을 높인 쌀 요구르트의 제조방법 및 그에 의하여 제조한 쌀 요구르트(2008, 특허출원).

주 의

1. 이 보고서는 농림수산식품부에서 시행한 한식 세계화 용역사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림수산식품부에서 시행한 한식 세계화 용역사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.